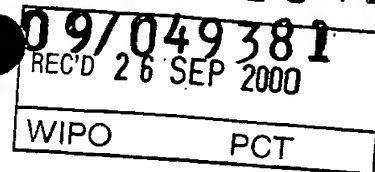


FR 00/02312



# BREVET D'INVENTION

## CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

DOCUMENT DE PRIORITE

PRÉSENTÉ OU TRANSMIS  
CONFORMÉMENT À LA  
RÈGLE 17.1.a) OU b)

## COPIE OFFICIELLE

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le **04 SEP. 2000**Pour le Directeur général de l'Institut  
national de la propriété industrielle  
Le Chef du Département des brevets

Martine PLANCHE

INSTITUT  
NATIONAL DE  
LA PROPRIÉTÉ  
INDUSTRIELLESIEGE  
26 bis, rue de Saint Petersburg  
75800 PARIS Cédex 08  
Téléphone : 01 53 04 53 04  
Télécopie : 01 42 93 59 30

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

REQUÊTE EN DÉLIVRANCE

Confirmation d'un dépôt par télécopie ☐

Cet imprimé est à remplir à l'encre noire en lettres capitales

26 bis, rue de Saint Pétersbourg  
75800 Paris Cedex 08  
Téléphone : 01 53 04 53 04 Télécopie : 01 42 93 59 30

Réserve à l'INPI

DATE DE REMISE DES PIÈCES **13 AOÛT 1999**  
N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL **9910490**  
DÉPARTEMENT DE DÉPÔT **75 INPI PARIS**  
DATE DE DÉPÔT **13 AOÛT 1999**

1 NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE  
À QUI LA CORRESPONDANCE DOIT ÊTRE ADRESSÉE  
**CABINET LAVOIX**  
**2 Place d'Estienne d'Orves**  
**75441 PARIS CEDEX 09**

2 DEMANDE Nature du titre de propriété industrielle

☒ brevet d'invention

☐ demande divisionnaire

☐ certificat d'utilité

☐ transformation d'une demande  
de brevet européen

☒ demande initiale

☐ brevet d'invention

n° du pouvoir permanent références du correspondant

téléphone

**BFF 99/0382**

**53-20-14-20**

date

Établissement du rapport de recherche

☐ différé

☒ immédiat

Le demandeur, personne physique, requiert le paiement échelonné de la redevance

☐ oui

☐ non

Titre de l'invention (200 caractères maximum)

**Dérivés d'ascididémone et leurs applications thérapeutiques.**

3 DEMANDEUR (S) n° SIREN

code APE-NAF

Nom et prénoms (souligner le nom patronymique) ou dénomination

**LABORATOIRE L. LAPON**

Forme juridique

Nationalité (s)

**Française**

Adresse (s) complète (s)

**19, Avenue du Professeur Cadiot 94701 MAISONS ALFORT**

Pays

**FR**

En cas d'insuffisance de place, poursuivre sur papier libre ☐

4 INVENTEUR (S) Les inventeurs sont les demandeurs

☐ oui

☒ non

Si la réponse est non, fournir une désignation séparée

5 RÉDUCTION DU TAUX DES REDEVANCES

☐ requise pour la 1ère fois

☐ requise antérieurement au dépôt : joindre copie de la décision d'admission

6 DÉCLARATION DE PRIORITÉ OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE LA DATE DE DÉPÔT D'UNE DEMANDE ANTÉRIEURE

pays d'origine

numéro

date de dépôt

nature de la demande

7 DIVISIONS

antérieures à la présente demande n°

date

n°

date

8 SIGNATURE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE

(nom et qualité du signataire)

**M. MONCHERY n° 92.1179**

*M. Monchery*

SIGNATURE DU PRÉPOSÉ À LA RÉCEPTION

SIGNATURE APRÈS ENREGISTREMENT DE LA DEMANDE À L'INPI

*[Signature]*

DÉPARTEMENT DES BREVETS

26 bis, rue de Saint Pétersbourg

75800 Paris Cedex 08

Téléphone : 01 53 04 53 04 Télécopie : 01 42 94 86 54

DÉSIGNATION D'INVENTEUR(S) Page N° 1.1.2

(Si le demandeur n'est pas l'inventeur ou l'unique inventeur)

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 113 W / 260899

|  |                             |   |  |
|--|-----------------------------|---|--|
| <b>Vos références pour ce dossier</b><br>(facultatif)  |                             | BFF 99/0382   |  |
| <b>N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL</b>  |                             | 99 10490  |  |
| <b>TITRE DE L'INVENTION</b> (200 caractères ou espaces maximum)  |                             |   |  |
| Dérivés d'ascididémine et leurs applications thérapeutiques.   |                             |   |  |
| <b>LE(S) DEMANDEUR(S) :</b>  |                             |   |  |
| LABORATOIRE L. LAFON   |                             |   |  |
| <b>DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) :</b> (Indiquez en haut à droite «Page N° 1/1» S'il y a plus de trois inventeurs, utilisez un formulaire identique et numérotez chaque page en indiquant le nombre total de pages). |                             |   |  |
| <b>Nom</b>   |                             | DELFOURNE Evelyne                                       |  |
| <b>Prénoms</b>   |                             |   |  |
| <b>Adresse</b>   | <b>Rue</b>                  | 4, impasse du Liège                                     |  |
|  | <b>Code postal et ville</b> | 66450 POLLESTRES FRANCE                                 |  |
| <b>Société d'appartenance (facultatif)</b>   |                             |   |  |
| <b>Nom</b>   |                             | DARRO Francis   |  |
| <b>Prénoms</b>   |                             |   |  |
| <b>Adresse</b>   | <b>Rue</b>                  | Avenue V. Olivier                                       |  |
|  | <b>Code postal et ville</b> | Bâtiment 8A, Boîte 60<br>1070 BRUXELLES BELGIQUE        |  |
| <b>Société d'appartenance (facultatif)</b>   |                             |   |  |
| <b>Nom</b>   |                             | BASTIDE Jean  |  |
| <b>Prénoms</b>   |                             |   |  |
| <b>Adresse</b>   | <b>Rue</b>                  | 20, rue Antoine Carbo                                   |  |
|  | <b>Code postal et ville</b> | 66000 PERPIGNAN FRANCE                                  |  |
| <b>Société d'appartenance (facultatif)</b>   |                             |   |  |
| <b>DATE ET SIGNATURE(S)</b><br><b>DU (DES) DEMANDEUR(S)</b><br><b>OU DU MANDATAIRE</b><br>(Nom et qualité du signataire)   |                             | Paris, le 16 Août 2000<br><br>C. JACOBSON<br>n° 92.1119 |  |

DÉPARTEMENT DES BREVETS

26 bis, rue de Saint Pétersbourg  
75800 Paris Cedex 08

Téléphone : 01 53 04 53 04 Télécopie : 01 42 94 86 54

DÉSIGNATION D'INVENTEUR(S) Page N° 2. / 2.  
(Si le demandeur n'est pas l'inventeur ou l'unique inventeur)

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 113 W / 260899

|   |                      |                                   |  |
|---|----------------------|-----------------------------------|--|
| Vos références pour ce dossier<br>(facultatif)  |                      | BFF 99/0382                       |  |
| N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL  |                      | 99 10490                          |  |
| TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum)  |                      |                                   |  |
| Dérivés d'ascididémène et leurs applications thérapeutiques.  |                      |                                   |  |
| DE(S) DEMANDEUR(S) :  |                      |                                   |  |
| LABORATOIRE L. LAFON  |                      |                                   |  |
| DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) : (Indiquez en haut à droite «Page N° 1/1» S'il y a plus de trois inventeurs, utilisez un formulaire identique et numérotez chaque page en indiquant le nombre total de pages). |                      |                                   |  |
| Nom   |                      | KISS Robert                       |  |
| Prénoms   |                      |                                   |  |
| Adresse   | Rue                  | 4, Cour au Bois                   |  |
|   | Code postal et ville | 1440 WAUTHIER-BRAINE BELGIQUE     |  |
| Société d'appartenance (facultatif)   |                      |                                   |  |
| Nom   |                      | FRYDMAN Armand                    |  |
| Prénoms   |                      |                                   |  |
| Adresse   | Rue                  | 10, allée des Fusains             |  |
|   | Code postal et ville | 91370 VERRIERES LE BUISSON FRANCE |  |
| Société d'appartenance (facultatif)   |                      |                                   |  |
| Nom   |                      |                                   |  |
| Prénoms   |                      |                                   |  |
| Adresse   | Rue                  |                                   |  |
|   | Code postal et ville |                                   |  |
| Société d'appartenance (facultatif)   |                      |                                   |  |
| DATE ET SIGNATURE(S)<br>DU (DES) DEMANDEUR(S)<br>OU DU MANDATAIRE<br>(Nom et qualité du signataire)   |                      | Paris, le 16 Août 2000            |  |
|   |                      | C. JACOBSON<br>n° 92.1119         |  |

# DOCUMENT COMPORTANT DES MODIFICATIONS

| PAGE(S) DE LA DESCRIPTION OU DES REVENDECATIONS<br>OU PLANCHE(S) DE DESSIN |              |            | R.M.* | DATE<br>DE LA<br>CORRESPONDANCE | TAMPON DATEUR<br>DU<br>CORRECTEUR |
|--|--------------|------------|-------|---------------------------------|-----------------------------------|
| Modifiée(s)  | Supprimée(s) | Ajoutée(s) |       |                                 |                                   |
| 32   |              |            |       |                                 |                                   |
| 37   |              |            | K     | 22.X.93                         | AMH 27 OCT. 1993                  |
|  |              |            |       |                                 |                                   |
|  |              |            |       |                                 |                                   |
|  |              |            |       |                                 |                                   |
|  |              |            |       |                                 |                                   |
|  |              |            |       |                                 |                                   |
|  |              |            |       |                                 |                                   |
|  |              |            |       |                                 |                                   |

Un changement apporté à la rédaction des revendications d'origine, sauf si celui-ci découle des dispositions de l'article R.612-36 du code de la Propriété Intellectuelle, est signalé par la mention «R.M.» (revendications modifiées).

La présente invention concerne des compositions pharmaceutiques à base de composés polyaromatiques utiles notamment comme médicaments antitumoraux.

En 1999, les traitements cytotoxiques (chimiothérapie) utilisés pour réduire la taille des tumeurs cancéreuses, contenir le développement du processus tumoral voire, dans trop peu de cas encore, supprimer les amas de cellules cancéreuses et le risque de métastases, combinent des substances chimiques d'introduction récente avec d'autres qui sont utilisées depuis quelques dizaines d'années. Par exemple, au 5-fluorouracil (5-FU), reconnu depuis près de 40 ans comme l'un des traitements les plus actifs du cancer colo-rectal, peut être substitué l'un ou l'autre des inhibiteurs spécifiques de la topoisomérase I (irinotécan ou topotécan) lorsque la tumeur n'est plus sensible au 5-FU. Plus généralement, l'arsenal thérapeutique disponible pour traiter les tumeurs colo-rectales va également s'enrichir avec la mise à disposition de l'oxaliplatine, des nouveaux "donneurs" in situ de 5-FU ou des inhibiteurs sélectifs de la thymidylate synthétase. Cette co-existence ne se limite pas au traitement des cancers colo-rectaux puisque, également, la chimiothérapie des cancers du sein, de l'ovaire, du poumon fait maintenant largement appel à la famille des dérivés des taxanes (paclitaxel, docetaxel). Le besoin de traitements plus efficaces et mieux tolérés, améliorant ainsi la survie et la qualité de vie des malades est impérieux puisque, en prenant toujours l'exemple des tumeurs colo-rectales, il a été estimé (S.L. Parker, T. Tong, S. Bolden *et al.*, CA Cancer J. Clin., 1997) que, rien qu'aux Etats-Unis plus de 131 000 nouveaux cas ont été diagnostiqués en 1997, dont 54 000 étaient responsables du décès des patients. C'est la connaissance de cette situation qui a incité les inventeurs à s'intéresser à une famille de composés polyaromatiques encore peu étudiés, identifiés chez des Ascidies de mers chaudes, pour développer une chimie médicinale originale destinée à sélectionner des composés synthétiques issus d'un travail de conception/modulation chimique et doués d'une activité cytotoxique significative au plan thérapeutique.

Les mers et les océans qui couvrent plus de 70 % de la surface du globe, hébergent des plantes marines et des éponges dont l'étude pharmacognosique systématique progressive montre que ces espèces vivantes peuvent contenir des alcaloïdes complexes présentant des propriétés pharmacologiques intéressantes. Par exemple, les éponges *Cryptotheca crypta* et *Halichondria okadai* font l'objet

d'études approfondies depuis la découverte de la présence, dans leurs cellules, de cytarabine ou d'halichondrine B. Il en est de même pour la famille des tuniciers, depuis l'isolement de l'aplidine du tunicier *Aplidium albicans* qui vit dans les îles Baléares (Espagne). Des alcaloïdes à structure tétrahydroisoquinolone ont été isolés de l'ascidie *Ecteinascidia turbinata*. Parmi ceux-ci, l'ecteinascidin-743 fait l'objet de travaux pré-cliniques approfondis (E. Igbicka *et al.*, NCI-EORTC symposium, 1998; Abst. 130 p.34), ainsi que d'essais cliniques destinés à définir son potentiel thérapeutique comme médicament anticancéreux (A. Bowman *et al.*, NCI-EORTC symposium, 1998; Abst. 452 p.118 ; M.Villanova-Calero *et al.*, NCI-EORTC symposium, 1998; Abst. 453 p.118 ; M.J.X. Hillebrand *et al.*, NCI-EORTC symposium, 1998; Abst. 455 p.119; E. Citkovic *et al.*, NCI-EORTC symposium, 1998; Abst. 456 p.119). De nouveaux dérivés d'acridines pentacycliques font également l'objet de travaux de pharmaco-chimie (D.J. Hagan *et al.*, J. Chem. Soc., Perkin Transf., 1997; 1: 2739-2746).

Autre alcaloïde naturel d'origine marine, l'ascididémine a été extraite du tunicier *Didemnum sp.* (J. Kobayashi *et al.*, Tehahedron, lett. 1988 ; 29 : 1177–80) et de l'ascidie *Cystodytes dellechiaiei* (I. Bonnard *et al.*, Anti-cancer Drug design 1995 ; 10 : 333–46). L'ascididémine possède des propriétés antiprolifératives mises en évidence sur le modèle de leucémie murine (lignées P388 ou L1210) et décrites par F. Schmitz *et al.* (J. Org. Chem. 1991 ; 56 : 804–8), B. Lindsay *et al.* (Bioorg. Med. Chem. Lett. 1995 ; 5 : 739–42) et J. Kobayashi *et al.* (Tehahedron lett. 1988 ; 29 : 1177–80) et sur le modèle de leucémie humaine décrites par I. Bonnard *et al.* (Anti-cancer Drug design 1995 ; 10 : 333–46). Plusieurs voies de synthèse de l'ascididémine ont été rapportées par différents auteurs : F. Bracher *et al.* (Heterocycles 1989 ; 29 : 2093–95), C.J. Moody *et al.* (Tetrahedron Lett. 1992 ; 48 : 3589–602) et G. Gellerman *et al.* (Synthesis 1994 ; 239–41).

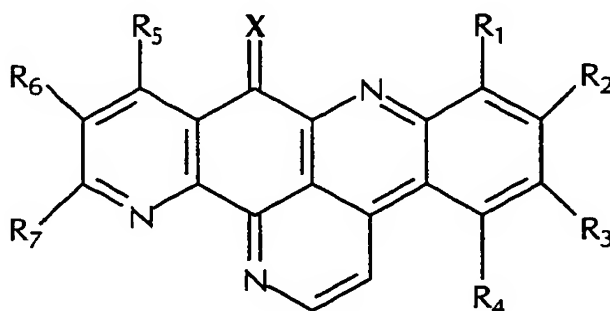
On peut également citer la 2-bromoleptoclinidone (selon la dénomination de S.J. Bloor *et al.* 1987) et isolée de l'ascidie *Leptoclinides sp.* par S.J. Bloor *et al.* (J. Ann. Chem. Soc. 1987 ; 109 : 6134–6) et synthétisée par F. Bracher *et al.* (Hétérocycles 1989 ; 29 : 2093–95) puis par M.E. Jung *et al.* (Hétérocycles 1994 ; 39 ; 2 : 767–778). La 2-bromoleptoclinidone présente une cytotoxicité sur le modèle cellulaire de leucémie avec une DE 50 de 0,4 µg/ml. Les propriétés cytotoxiques



ont été confirmées, par F. Bracher (Pharmazie 1997 ; 52 : 57–60) aussi bien *in vitro* - sur soixante lignées cellulaires tumorales en culture - que *in vivo* sur les modèles de xénogreffes de lignées cellulaires tumorales humaines (tumeurs du colon SW-620 et HTC116, tumeur rénale A498 et mélanome LOX IM VI) implantées chez des souris.

D'autres composés dérivés de l'ascididémine tels que la 11-hydroxy ascididémine, la 11-méthoxy ascididémine, les 11-phényle et 11-nitrophényle ascididémines, les 1-nitro et 3-nitro ascididémines et la néocalliactine ont été décrits au plan chimique (selon la numérotation de S.J. Bloor *et al.* 1987) par différentes équipes telles que celles de F.J. Schmitz (J. Org. Chem. 1991 ; 56 : 804-8) et de Y. Kitahara *et al.* (Heterocycles 1993 ; 36 : 943–46 ; Tetrahedron Lett. 1997 ; 53, 17029–38), G. Gellerman *et al.* (Tetrahedron Lett. 1993 ; 34 : 1827-30), S. Nakahara *et al.* (Heterocycles 1993; 36 : 1139-44), I. Spector *et al.* (US Patent Number : 5,432,172, Jul. 11, 1995).

La présente invention a pour objet une composition pharmaceutique comprenant une quantité efficace d'un composé choisi parmi les composés de formule générale suivante :



**Formule I**

dans laquelle :

- X est choisi parmi l'oxygène, le groupe =NH, le groupe =N-OH,

- R<sub>1</sub> est choisi parmi l'hydrogène, les halogènes, le groupe nitro et les groupes -NR<sub>8</sub>R<sub>9</sub> dans lesquels R<sub>8</sub> et R<sub>9</sub> sont choisis indépendamment l'un de l'autre parmi l'hydrogène et les groupes alkyle (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) ;

- R<sub>2</sub> est choisi parmi l'hydrogène, les halogènes,

- R<sub>3</sub> est choisi parmi l'hydrogène, les halogènes, les groupes alkyle (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), les groupes alcoxy (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), un groupe guanidino, les groupes -NR<sub>10</sub>R<sub>11</sub> dans lesquels R<sub>10</sub> et R<sub>11</sub> sont choisis, indépendamment l'un de l'autre, parmi l'hydrogène, les groupes alkyle (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), phénylalkyle (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, et -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>,

- R<sub>4</sub> est choisi parmi l'hydrogène, les halogènes, le groupes nitro, et les groupes -NR<sub>12</sub>R<sub>13</sub> dans lesquels R<sub>12</sub> et R<sub>13</sub> sont choisis indépendamment l'un de l'autre parmi l'hydrogène et les groupes alkyle (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) ;

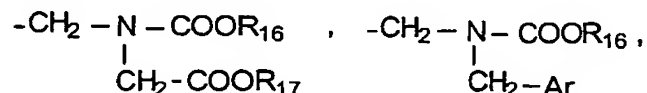
- R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub> et R<sub>7</sub> sont choisis parmi :

l'hydrogène, un atome d'halogène,

les groupes alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, hydroxyle, alcoxy en C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, -CHO, -COOH, -CN, -CO<sub>2</sub>R<sub>14</sub>, -CONHR<sub>14</sub>, -CONR<sub>14</sub>R<sub>15</sub>, les groupes -NHCOR<sub>14</sub> et -NR<sub>14</sub>R<sub>15</sub>, dans lesquels R<sub>14</sub> et R<sub>15</sub> sont choisis indépendamment l'un de l'autre parmi l'hydrogène, les groupes alkyle (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) et -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>,

les groupes -phényl-CO-CH<sub>3</sub> ou -phényl-CO-CH=CH-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, morpholino, nitro, SO<sub>3</sub>H,

les groupes :



R<sub>16</sub> et R<sub>17</sub> étant choisis parmi les groupes alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> et Ar étant un groupe aryle en C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>,

à l'exclusion des composés dans lesquels X = O,

et ou bien R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub> = H,

ou bien R<sub>1</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub> = H et R<sub>2</sub> = Br,

et leurs sels d'addition de ces composés avec des acides pharmaceutiquement acceptables.

La présente invention a plus particulièrement pour objet une composition pharmaceutique comprenant une quantité efficace d'un composé choisi parmi les composés de formule I dans laquelle :

- X représente l'oxygène,
- R<sub>1</sub> est choisi parmi l'hydrogène et le groupe amino,
- R<sub>2</sub> est choisi parmi l'hydrogène et les halogènes,
- R<sub>3</sub> est choisi parmi l'hydrogène, les halogènes, les groupes alkyle (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), les groupes alcoxy (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), un groupe guanidino, les groupes -NR<sub>10</sub>R<sub>11</sub> dans lesquels R<sub>10</sub> et R<sub>11</sub> sont choisis, indépendamment l'un de l'autre, parmi l'hydrogène, les groupes méthyle, phénylalkyle (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> ;

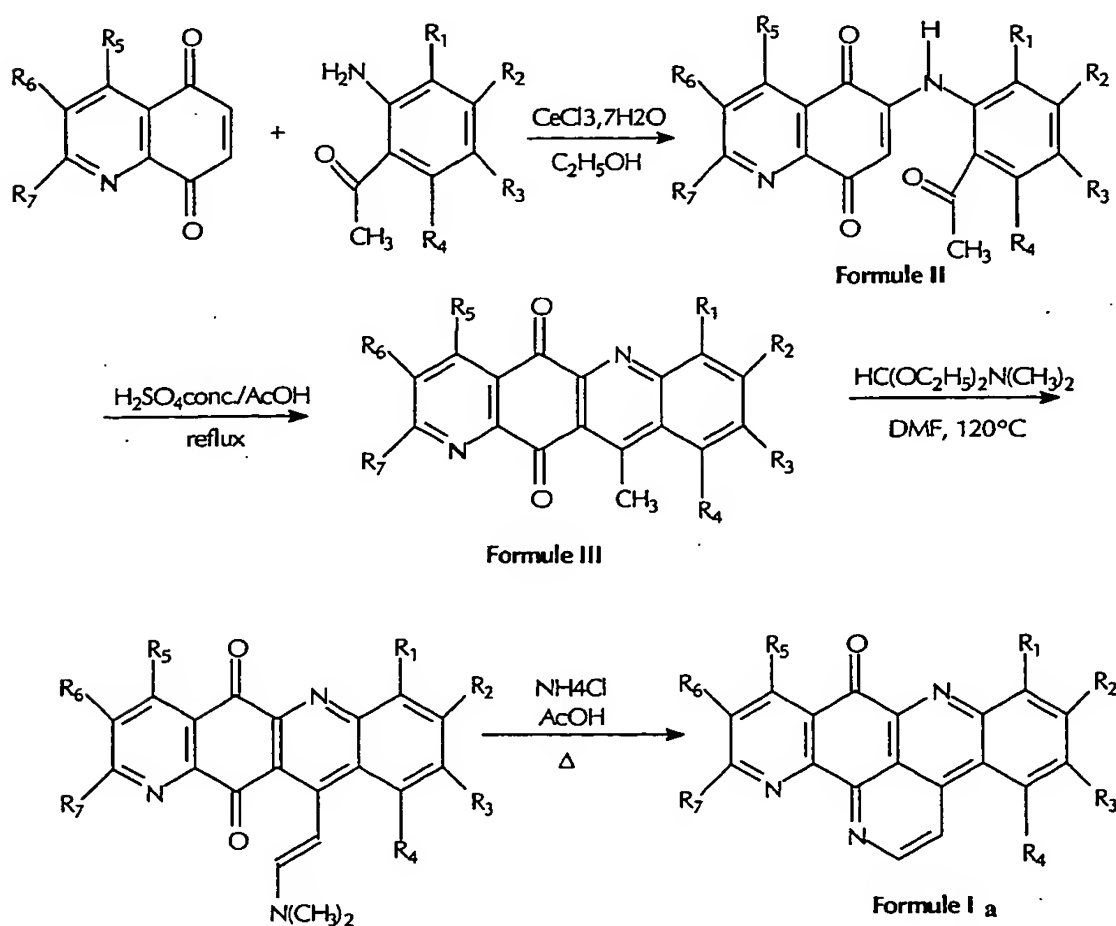
- R<sub>4</sub> est choisi parmi l'hydrogène, les halogènes et le groupe nitro et amino,
  - R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub> représentent un hydrogène,
- à l'exclusion des composés dans lesquels R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub> = H, ou R<sub>1</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub> = H et R<sub>2</sub> = Br,

et leurs sels d'addition de ces composés avec des acides pharmaceutiquement acceptables.

Les "sels d'addition avec des acides pharmaceutiquement acceptables" désignent les sels qui donnent les propriétés biologiques des bases libres, sans avoir d'effet indésirable. Ces sels peuvent être notamment ceux formés avec des acides minéraux, tels que l'acide chlorhydrique, l'acide bromhydrique, l'acide sulfurique, l'acide nitrique, l'acide phosphorique; des sels métalliques acides, tels que l'orthophosphate disodique et le sulfate monopotassique, et des acides organiques.

De manière générale, les composés de formule I sont obtenus selon le schéma réactionnel général décrit par F. Bracher *et al* (Heterocycles 1989 ; 29 :

2093–95) pour l'ascididémine. Selon ce schéma, les composés sont préparés par amination oxydative d'une 5,8-quinone substituée avec une ortho-aminoacétophénone substituée, suivi de la cyclisation de la diaryl amine obtenue (composés de formule II) en quinone tétracyclique intermédiaire (composés de  
 5 formule III). L'énamine formée par réaction du composé de formule III avec le diéthyl acétal du diméthylformamide conduit au dérivé final par cyclisation :



L'ascididémine a été préparée selon le procédé décrit par F. Bracher *et al.* (Heterocycles 1989 ; 29 : 2093–95) et est référencée, dans le présent document, sous le numéro CRL 8274.

Certains des composés décrits ont été préparés directement à partir de l'ascididémine ou à partir d'un composé de formule I utilisé comme intermédiaire de synthèse.

## 5 A - Préparation des produits intermédiaires de formule II

### A-1 - Synthèse de la 6-(2-acétyl-4-méthyl-phénylamino)-quinoline-5,8-dione (intermédiaire A<sub>1</sub>) (CRL 8322)

On additionne lentement une solution de quinoline-5,8-dione (0,215 g, 1,35 mmol) dans 12 ml d'éthanol, à une solution de chlorure de cérium (1g, 2,7 mmol) et de 5-méthyl-2 amino acétophénone (0,402 g, 2,7 mmol) dans 5 ml d'éthanol. Le milieu réactionnel (rouge) est laissé sous agitation à température ambiante une nuit. On hydrolyse par 30 ml d'une solution aqueuse d'acide acétique à 10 % et on extrait 4 fois au chloroforme. Les phases organiques sont séchées sur MgSO<sub>4</sub> puis évaporées. Le brut obtenu est purifié par flash-chromatographie sur colonne de silice (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 95 : 5) pour donner 0,405 g du composé tricyclique attendu sous forme de poudre :

- Rendement = 98 %

- RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) : 2,42 (s, 3H), 2,77 (s, 3H), 6,86 (s, 1H), 7,38 (dd, 1H, J = 8 et 1.6 Hz), 7,52 (d, 1H, J = 8 Hz), 7,61 (dd, 1H, J = 5,2 et 7,6 Hz), 7,74 (d, 1H, J = 1.6 Hz), 8,46 (dd, 1H, J = 7,6 et 5,2 Hz), 9,02 (dd, 1H, J = 2 et 5,2 Hz), 11,18 (s, 1H).

### 25 A-2 - Synthèse de la 6-(2-acétyl-4-chloro-phénylamino)-quinoline-5,8-dione (Intermédiaire A<sub>2</sub>)

Préparation selon le procédé décrit dans le chapitre A-1 : quinoline-5,8-dione (0,188 g, 1,18 mmol), chlorure de cérium (0,88 g, 2,36 mmol), 5-chloro-2-aminoacétophénone (0,4 g, 3,14 mmol), éthanol (10 + 4 ml), acide acétique (25 ml). On obtient 0,3 g de poudre rouge :

- Rendement = 78 %

• RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) : 2,65 (s, 3H), 6,84 (s, 1H), 7,52 (dd, 1H,  $J = 8,8$  Hz), 7,57 (d, 1H,  $J = 8,8$  Hz), 7,63 (dd, 1H,  $J = 8$  et 4,4 Hz), 7,89 (d, 1H,  $J = 2,4$  Hz), 8,46 (dd, 1H,  $J = 0,8$  et 8 Hz), 9,02 (dd, 1H,  $J = 2$  et 5,2 Hz), 11,18 (s, 1H).

5 • RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) : 28,5 ; 107,36 ; 121,86 ; 126,69 ; 126,85 ; 127,49 ; 128,39 ; 132,10 ; 134,06 ; 134,75 ; 138,36 ; 143,29 ; 148,32 ; 155,22 ; 181,28 ; 182,63 ; 200,39.

### 10 A-3 - Synthèse de la 6-(2-acétyl-4-benzylamino-phénylamino)-quinoline-5,8-dione (*Intermédiaire A3*)

Préparation selon le procédé décrit dans le chapitre A-1: quinoline-5,8-dione (0,250 g, 1,57 mmol), chlorure de cérium (0,77 g, 3,14 mmol), 5-benzylamino-2-aminoacétophénone (0,603 g, 3,14 mmol), éthanol (15 + 7 ml), acide acétique (35 ml). On obtient 0,56 g de poudre rouge :

- 15 • Rendement = 91 %.

• RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) : 2,54 (s, 3H), 4,38 (s, 2H), 6,70 (s, 1H), 6,83 (dd, 1H,  $J = 9,6$  et 3,2 Hz), 7,08 (d, 1H,  $J = 3,2$  Hz), 7,30-7,37 (m, 5H), 7,43 (d, 1H,  $J = 9,6$  Hz), 7,58 (dd, 1H,  $J = 7,6$  et 4,8 Hz), 8,43 (dd, 1H,  $J = 7,6$  et 2 Hz), 9,03 (dd, 1H,  $J = 2$  et 4,8 Hz), 10,67 (s, 1H).

### 20 A-4 - Synthèse de la 6-(2-acétyl-5-bromo-phénylamino)-quinoline- 5,8 dione (*Intermédiaire A4*) (CRL8268)

Préparation selon le procédé décrit par F. Bracher, Liebigs Ann. Chem. 1990, 205-206.

### 25 A-5 - Synthèse de la 6-(2-acétyl-4-diméthylamino-phénylamino)-quinoline-5,8-dione (*Intermédiaire A5*)

Préparation selon le procédé décrit dans le chapitre A-1 : quinoline-5,8-dione (0,36 g, 2,26 mmol), chlorure de cérium (1,67 g, 4,49 mmol), 5-diméthylamino-2-aminoacétophénone (0,8 g, 4,49 mmol), éthanol (20 + 10 ml), acide acétique (50 ml). On obtient 1,26 g de poudre rouge :

- 30 • Rendement = 84 %.

• RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) : 2,85 (s, 3H), 3,12 (s, 6H), 6,72 (s, 1H) 6,90 (dd, 1H, J = 2,8 et 9,2 Hz), 7,15 (d, 1H, J = 2,8 Hz), 7,49 (d, 1H, J = 9,2 Hz), 7,58 (dd, 1H, J = 8Hz et 4,4 Hz), 8,43 (dd, 1H, J = 1,6 et 8 Hz), 9,00 (dd, 1H, J = 1,6 et 4,4 Hz), 10,69 (s, 1H).

5

#### **A-6 - Synthèse de la 6-(2-acétyl-4-méthoxy-phénylamino)-quinoline-5,8-dione (*Intermédiaire A6*)**

Préparation selon le procédé décrit dans le chapitre A-1 : quinoline-5,8-dione (3,51 g, 22,08 mmol), chlorure de cérium (16,4 g, 44,03 mmol), 5-méthoxy-2-amino acétophénone (7,29 g, 44,18 mmol), éthanol (200 + 90 ml), acide acétique (500 ml). On obtient 4,25 g de poudre rouge :

• Rendement = 60 %.

• RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) : 2,65 (s, 3H), 3,87 (s, 3H), 6,76 (s, 1H) 7,12 (dd, 1H, J = 2,8 et 8,8 Hz), 7,42 (d, 1H, J = 2,8 Hz), 7,55 (d, 1H, J = 8,8 Hz), 7,61 (dd, 1H, J = 7,6 et 4,4 Hz), 8,45 (dd, 1H, J = 1,6 et 7,6 Hz), 9,01 (dd, 1H, J = 1,6 et 4,4 Hz), 10,80 (s, 1H).

#### **A-7 - Synthèse de la 4-(2'-acétylanilino)-6-(2-acétyl-phénylamino)-quinoline-5,8-dione (*Intermédiaire A7*)**

Préparation selon le procédé décrit dans le chapitre A-1 : 4-chloro-quinoline-5,8-dione (3,5 g, 18 mmol), chlorure de cérium (13,5 g, 36,24 mmol), 2-aminoacétophénone (4,4 ml, 36 mmol), éthanol (160 + 70 ml), acide acétique (400 ml). On obtient 2,32 g de poudre rouge :

• Rendement = 30 %.

• RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) : 2,69 (s, 3H), 2,72 (s, 3H), 6,85 (s, 1H), 7,18 (ddd, 1H, J = 7,6 et 7,6 et 0,8 Hz), 7,28 (m, 1H), 7,30 (d, 1H, J = 6,4 Hz), 7,54-7,59 (m, 3H), 7,63 (d, 1H, J = 7,6 Hz), 7,91 (dd, 1H, J = 1,6 et 8,4 Hz), 7,94 (dd, 1H, J = 1,2 et 8,4 Hz), 8,47 (d, 1H, J = 6,4 Hz), 11,35 (s, 1H), 12,35 (s, 1H).

30

#### **A-8 - Synthèse de la 6-(2-acétyl-4-bromo-phénylamino)-3-méthoxy-quinoline-5,8-dione (*Intermédiaire A8*)**

Préparation selon le procédé décrit dans le chapitre A-1 : 3-méthoxyquinoline-5,8-dione (1,57 g, 9,1 mmol), chlorure de cérium (3,1 g, 8,3 mmol), 5-bromo-2-amino acétophénone (Leonard, Boyd, J.Org. Chem. 1946;11, 419-423) (1,95g, 9,1 mmol), éthanol (200 ml), acide acétique (180 ml). On obtient après  
 5 purification par flash-chromatographie sur colonne de silice (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 95 :

5) 1,22 g de poudre orange :

- Rendement = 37 %.

- RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) : 3,15 (s, 3H), 4,58 (s, 3H), 7,61 (d, 1H, J = 6 Hz), 7,74 (s, 1H), 7,99 (d, 1H, J = 8,8 Hz), 8,14 (dd, 1H, J = 8,8 et 2,4 Hz), 8,51 (d, 1H, J = 2,8  
 10 Hz), 9,32 (d, 1H, J = 6 Hz), 11,68 (s, 1H).

## B - Préparation des produits intermédiaires de formule III

### 15 B-1 - Synthèse de la 9,11-diméthyl-1,6-diaza-naphtacène-5,12-dione (*intermédiaire B1*)(CRL 8324)

A une solution de tricycle intermédiaire A1 (0,4 g, 1,3 mmol) dans 12 ml d'acide acétique, on ajoute lentement 1,9 ml d'acide sulfurique en solution dans 9,6 ml d'acide acétique. Le milieu réactionnel est porté à reflux 30 minutes, puis  
 20 versé, après refroidissement, dans un b  cher contenant de la glace pil  e. On neutralise par NH<sub>4</sub>OH puis on extrait 4 fois au dichlorométhane. Les phases organiques sont séchées sur MgSO<sub>4</sub> puis évaporées. Le brut obtenu est purifié par flash-chromatographie sur colonne de silice (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 95 : 5) pour donner 0,325 g de composé tétracycle attendu.

25 • Rendement = 86 %

- RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) : 2,64 (s, 3H), 3,29 (s, 3H), 7,74 (dd, 1H, J = 7,6 et 4,8 Hz), 7,75 (dd, 1H, J = 8,4 et 1,6 Hz), 8,12 (dd, J = 1,6 Hz), 8,33 (d, 1H, J = 8,4), 8,71 (dd, 1H, J = 2 et 7,6 Hz), 9,13 (dd, 1H, J = 2 et 4,8 Hz).

30

### B-2 – Synthèse d la 9-chloro-11-méthyl-1,6-diaza-naphtacène-5,12-dione (*Intermédiaire B2*)



Préparation selon le procédé décrit dans le chapitre B-1 : tricycle intermédiaire A<sub>2</sub> (0,289 g, 0,88 mmol), acide sulfurique (1,3 ml), acide acétique (8 + 6,5 ml). Après purification par flash-chromatographie (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 95 : 5), on obtient 0,26 g de tétracycle :

• Rendement : 95 %

• RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) : 3,25 (s, 3H), 7,76 (dd, 1H, J = 8 et 4,8 Hz), 7,85 (dd, 1H, J = 8,8 et 2 Hz), 8,33 (dd, 1H, J = 2 Hz), 8,38 (d, 1H, J = 8,8), 8,71 (dd, 1H, J = 1,6 et 8 Hz), 9,15 (dd, 1H, J = 1,6 et 4,8 Hz).

### 10 B-3 - Synthèse de la 9-benzylamino-11-méthyl-1,6-diaza-naphtacène-5,12-dione (*Intermédiaire B3*)

Préparation selon le procédé décrit dans le chapitre B-1 : intermédiaire A<sub>3</sub> (4 g, 10 mmol), acide sulfurique (15,1 ml), acide acétique (92 + 75 ml). Après traitement, on obtient 3,58 g de tétracycle.

• Rendement = 98 %

• RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) : 3,09 (s, 3H), 4,52 (d, 2H), 4,86 (t, 1H), 7,06 (d, 1H, J = 2,8 Hz), 7,29 (dd, 1H, J = 9,2 et 2,8 Hz), 7,3-7,43 (m, 5H), 7,71 (dd, 1H, J = 4,8 et 8 Hz), 8,20 (d, 1H, J = 9,8 Hz), 8,69 (dd, 1H, J = 1,6 et 8 Hz), 9,09 (dd, 1H, J = 1,6 et 4,8 Hz).

### 20 B-4 - Synthèse de la 8-bromo-11-méthyl-1,6-diaza-naphtacène-5,12-dione (*Intermédiaire B4*)

Préparation selon le procédé décrit par F. Bracher, Liebigs Ann. Chem. 1990, 205-206.

### 25 B-5 - Synthèse de la 9-diméthylamino-11-méthyl-1,6-diaza-naphtacène-5,12-dione (*intermédiaire B5*)

Préparation selon le procédé décrit dans le chapitre B-1 : tricycle intermédiaire A<sub>5</sub> (0,76 g, 2,27 mmol), acide sulfurique (3,5 ml), acide acétique (20 + 18 ml).

Après traitement on obtient 0,67 g de tétracycle.

• Rendement = 93 %

- RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) : 3,17 (s, 3H), 3,21 (s, 6H), 7,04 (d, 1H,  $J = 3,2$  Hz), 7,51 (dd, 1H,  $J = 3,2$  et 9,2 Hz), 7,71 (dd, 1H,  $J = 8$  et 4,4 Hz), 8,26 (d, 1H,  $J = 9,2$  Hz), 8,7 (dd, 1H,  $J = 1,6$  et 8 Hz) 9,09 (dd, 1H,  $J = 1,6$  et 4,4 Hz).

5 **B-6 - Synthèse de la 9-méthoxy-11-méthyl-1,6-diaza-naphtacène-5,12-dione**  
(*Intermédiaire B6*)

Préparation selon le procédé décrit dans le chapitre B-1 : tricycle intermédiaire A6 (4,25 g, 13,18 mmol), acide sulfurique (20 ml), acide acétique (110 + 100 ml). Le produit obtenu par flash-chromatographie ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  100 : 3) est lavé à l'éther éthylique pour donner 2,9 g de tétracycle.

- Rendement = 72 %

- RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) : 3,25 (s, 3H), 4,02 (s, 3H), 7,49 (d, 1H,  $J = 3,3$  Hz), 7,56 (dd, 1H,  $J = 3,3$  et 9,3 Hz), 7,74 (dd, 1H,  $J = 8,3$  et 4,3 Hz), 8,34 (d, 1H,  $J = 9,3$  Hz), 8,71 (dd, 1H,  $J = 2,5$  et 8,3 Hz) 9,12 (dd, 1H,  $J = 2,5$  et 4,3 Hz).

15

**B-7- Synthèse de la 4-(2'-acétylanilino)-11-méthyl-1,6-diaza-naphtacène-5,12-dione**(*Intermédiaire B7*) (CRL 8332)

Préparation selon le procédé décrit dans le chapitre B-1 : tricycle intermédiaire A7 (1 g, 2,35 mmol), acide sulfurique (3,5 ml), acide acétique (18 ml). Le produit obtenu par flash-chromatographie ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  100 : 3) est lavé à l'éther éthylique pour donner 0,6 g de tétracycle sous forme de poudre orange.

- Rendement = 63 %

- RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) : 2,59 (s, 3H), 3,25 (s, 3H), 7,29 (ddd, 1H,  $J = 7,2$  et 7,2 et 1,2 Hz), 7,37 (d, 1H,  $J = 6$  Hz), 7,54 (ddd, 1H,  $J = 6,8$  et 6,8 et 1,6 Hz), 7,59 (d, 1H,  $J = 6,8$  Hz), 7,74 (dd, 1H,  $J = 7,2$  et 1,2 Hz), 7,76 (dd, 1H,  $J = 6,8$  et 1,6 Hz), 7,87-7,918 (m, 2H), 8,34 (d, 1H,  $J = 8,4$  Hz), 8,43 (d, 1H,  $J = 8,4$  Hz), 8,54 (d, 1H, 6 Hz), 12,5 (s, 1H).

30 **B-8- Synthèse de la 3-méthoxy-9-bromo-11-méthyl-1,6-diaza-naphtacène - 5,12-dione** (*Intermédiaire B8*)

Préparation selon le procédé décrit dans le chapitre B-1 : tricycle intermédiaire A8 (1,22 g, 3,04 mmol), acide sulfurique (4,5 ml), acide acétique (27 + 23 ml). Le produit obtenu par flash-chromatographie (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 100 : 3) est lavé à l'éther éthylique pour donner 0,76 g de tétracycle sous forme de poudre jaune.

• Rendement = 65 %

• RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) : 3,21 (s, 3H), 4,10 (s, 3H), 7,18 (d, 1H, J = 6 Hz), 7,96 (dd, 1H, J = 8,8 et 2 Hz), 8,27 (d, 1H, J = 8,8 Hz), 8,47 (d, 1H, J = 2 Hz), 8,89 (d, 1H, J = 6 Hz).

### EXEMPLE 1

#### 5-méthyl-9H-quinol[4,3,2-de][1,10]phénanthrolin-9-one (CRL 8323)

On porte à reflux pendant 1 heure une solution de tétracycle intermédiaire B1 (1 g, 3,47 mmol) et de diméthylformamide diéthyl acétal (2 ml, 10,41 mmol) dans 7 ml de DMF. Après évaporation à sec, on ajoute du chlorure d'ammonium (2,77 g, 52 mmol) et 50 ml d'éthanol. Le milieu réactionnel est à nouveau porté à reflux 30 minutes. Après évaporation du solvant, le brut est repris à l'eau et extrait 4 fois au dichlorométhane. Les phases organiques sont séchées sur MgSO<sub>4</sub> puis évaporées. Après recristallisation dans 125 ml de méthanol, on obtient 0,7 g du pentacycle attendu sous forme d'un solide jaune moutarde.

• Rendement = 67 %

• Point de fusion = 200° C

• RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) : 2,69 (s, 3H), 7,65 (dd, 1H, J = 8 et 4,8 Hz), 7,81 (dd, 1H, J = 8 et 1,2 Hz), 8,44 (d, 1H, J = 1,2 Hz), 8,49 (d, 1H, J = 8 Hz), 8,50 (d, 1H, J = 5,6 Hz), 8,78 (dd, 1H, J = 2 et 8 Hz), 9,15 (dd, 1H, J = 4,8 et 2 Hz), 9,24 (d, 1H, J = 5,6 Hz).

• RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>) : 22,06 ; 116,54 ; 117,87 ; 122,15 ; 123,12 ; 125,24 ; 128,74 ; 132,58 ; 133,47 ; 136,25 ; 137,19 ; 141,63 ; 143,88 ; 144,79 ; 149,16 ; 149,31 ; 152,09 ; 155,15 ; 181,53.

• SM (m/z) : 297 (17,6); 296 (34,3); 268 (25,4); 149 (50,3).

**EXEMPLE 2****5-chloro-9H-quino [4,3,2-de] [1,10] phénantr lin-9-one  
(CRL 8301)**

Préparation selon le procédé décrit dans l'exemple 1 à partir du tétracycle  
intermédiaire B2 (0,25 g, 0,81 mmol) et le diméthylformamide diéthyl acétal (1,5  
ml, 8,75 mmol) dans le DMF (4,5 ml). Chlorure d'ammomium (2,95 g, 55 mmol),  
éthanol (50 ml). Après purification par flash-chromatographie (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 98 :  
2), on obtient 60 mg du pentacycle attendu sous forme d'un solide jaune.

- Rendement = 23 %

- Point de fusion = 200° C

- RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) : 7,68 (dd, 1H, J = 8,4 et 4,8 Hz), 7,94 (dd, 1H, J = 8,8 et 2 Hz), 8,46 (d, 1H, J = 5,6 Hz), 8,55 (d, 1H, J = 8,8 Hz), 8,63 (d, 1H, J = 2 Hz), 8,79 (dd, 1H, J = 2 et 8,4 Hz), 9,18 (dd, 1H, J = 4,8 et 2 Hz), 9,30 (d, 1H, J = 5,6 Hz).

- RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>) : 117,07 ; 118,46 ; 122,98 ; 124,82 ; 126,12 ; 129,34 ; 133,02 ; 134,81 ; 137,00 ; 137,42 ; 137,79 ; 144,45 ; 146,35 ; 150,24 ; 150,45 ; 152,55 ; 156,02 ; 181,9.

- SM (m/z) : 319 (43); 317 (100); 291 (14,5); 290 (18); 289 (100).

**EXEMPLE 3****5-(benzylamino)-9H-quino[4,3,2-de][1,10]phénanthrolin-9-one  
(CRL 8241)**

Préparation selon le procédé décrit dans l'exemple 1 à partir du tétracycle  
intermédiaire B3 (3,58 g, 9,45 mmol) et le diméthylformamide diéthyl acétal (5,7  
ml, 33,26 mmol) dans du DMF (19 ml). Chlorure d'ammomium (2,95 g, 55 mmol),  
éthanol (50 ml). Après purification par flash-chromatographie (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 96 :  
4), on obtient 2 g du pentacycle attendu sous forme de poudre lie-de-vin.

- Rendement = 55 %

- Point de fusion = 219° C

- RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) : 4,61 (d, 2H), 5,10 (t, 1H), 7,31 (dd, 1H, J = 8,8 Hz, J = 2.4 Hz), 7,452-7,327 (m, 5H), 7,55 (d, 1H, J = 2,4 Hz), 7,63 (dd, 1H, J = 4,4 Hz, J =

8,4 Hz), 8,29 (d, 1H, J = 5,2 Hz), 8,36 (d, 1H, J = 8,8 Hz), 8,79 (dd, 1H, J = 1,2 Hz, J = 8,4 Hz), 9,13 (dd, 1H, J = 4,4 et 1,2 Hz), 9,14 (d, 1H, J = 5,2 Hz).

• SM (m/z) : 388 (7); 387 (100); 386 (85); 385 (25); 369 (99); 368 (44).

#### 5 **EXEMPLE 4**

##### **5-(diméthylamino)-9H-quin[4,3,2-de][1,10]phénanthrolin-9-one (CRL 8325)**

Préparation selon le procédé décrit dans l'exemple 1 à partir du tétracycle intermédiaire B5 (0,25 g, 0,79 mmol) et le diméthylformamide diéthyl acétal  
10 (0,5 ml, 2,98 mmol) dans le DMF (5 ml). Chlorure d'ammomium (1 g, 18,7 mmol), éthanol (16 ml). Après purification par flash-chromatographie (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 100 : 5), on obtient 170 mg du pentacycle attendu sous forme d'une poudre violette.

• Rendement = 66 %

• Point de fusion 260°C

15 • RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) : 3,25 (s, 6H), 7,45 (dd, 1H, J = 9,2 Hz, J = 3Hz), 7,57 (d, 1H, J = 3 Hz), 7,63 (dd, 1H, J = 4,4 et 8Hz), 8,41 (d, 1H, J = 9,2 Hz), 8,43 (d, 1H, J = 5,6 Hz), 8,81 (dd, 1H, J = 2 et 7,6 Hz), 9,13 (dd, 1H, J = 4,4 et 2 Hz), 9,17 (d, 1H, J = 5,6 Hz).

• RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>) : 40,45 ; 100,84 ; 116,81 ; 118,69 ; 118,99 ; 125,19 ;  
20 126,10 ; 129,46 ; 134,62 ; 136,03 ; 136,30 ; 139,00 ; 140,69 ; 148,16 ; 149,15 ; 151,53 ; 152,47 ; 154,83 ; 181,65.

• SM(m/z) : 326 (34,5); 325 (100); 324 (100); 254 (15,5); 253 (13,4).

#### **EXEMPLE 5**

##### 25 **5-méthoxy-9H-quin[4,3,2-de][1,10]phénanthrolin-9-one (CRL 8297)**

Préparation selon le procédé décrit dans l'exemple 1 à partir du tétracycle intermédiaire B6 (2 g, 6,57 mmol) et le diméthylformamide diéthyl acétal (4 ml, 23,34 mmol) dans le DMF (14 ml). Chlorure d'ammomium (8 g, 149,5 mmol),  
30 éthanol (130 ml). Après purification par flash-chromatographie (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 100 : 5), on obtient 170 mg du pentacycle attendu sous forme d'un solide verdâtre.

- Rendement = 66 %

- Point de fusion > 260 °C

- RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) : 4,10 (s, 3H), 7,62 (dd, 1H,  $J = 9,2 \text{ Hz}$ ,  $J = 2,4 \text{ Hz}$ ), 7,66 (dd, 1H,  $J = 4,4$  et  $8 \text{ Hz}$ ), 7,96 (d, 1H,  $J = 2,4 \text{ Hz}$ ), 8,48 (d, 1H,  $J = 2,4 \text{ Hz}$ ), 8,54 (d, 1H,  $J = 9,2 \text{ Hz}$ ), 8,80 (dd, 1H,  $J = 2,4$  et  $8 \text{ Hz}$ ), 9,16 (dd, 1H,  $J = 4,4$  et  $2,4 \text{ Hz}$ ), 9,25 (d, 1H,  $J = 5,2 \text{ Hz}$ ).

- RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) : 30,93 ; 116,86 ; 118,41 ; 122,44 ; 125,56 ; 129,25 ; 134,96 ; 136,55 ; 137,13 ; 141,52 ; 143,67 ; 149,11 ; 149,77 ; 152,37 ; 155,38 ; 161,71 ; 181,93 ; 207,00.

- SM (m/z) : 313 (26); 312 (100); 285 (2); 284 (15); 269 (15); 242 (32.5).

### **EXEMPLE 6**

#### **7-nitro-9H-quino[4,3,2-de][1,10]phénanthrolin-9-one**

**(CRL 8289)**

A 0 °C, on ajoute, par portions, de l'ascididémine (2 g, 7,06 mmol) à un mélange de 45 ml d'acide sulfurique et de 45 ml d'acide nitrique. Le milieu réactionnel est chauffé à 130°C pendant 2 heures puis versé après refroidissement dans un erlen contenant 400 g de glace. Après filtration, on obtient un précipité jaune que l'on rince plusieurs fois à l'éther. On le reprend ensuite dans un mélange  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{NH}_4\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$  600 : 1 : 300. On récupère la phase organique et on extrait 3 fois la phase aqueuse au  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Après séchage sur  $\text{MgSO}_4$ , les phases organiques sont évaporées pour donner 1,62 g de pentacycle attendu sous forme d'un solide jaune.

- Rendement = 70 %

- Point de fusion = 224° C

- RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) : 7,69 (dd, 1H,  $J = 4,4$  et  $8 \text{ Hz}$ ), 8,04 (dd, 1H,  $J = 8$  et  $8 \text{ Hz}$ ), 8,28 (dd, 1H,  $J = 8 \text{ Hz}$ ), 8,56 (d, 1H,  $J = 5,2 \text{ Hz}$ ), 8,75 (dd, 1H,  $J = 2$  et  $8 \text{ Hz}$ ), 8,89 (dd, 1H,  $J = 1,2$  et  $8 \text{ Hz}$ ), 9,18 (dd, 1H,  $J = 4,4$  et  $2 \text{ Hz}$ ), 9,37 (d, 1H,  $J = 5,6 \text{ Hz}$ ).

- RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) : 79,20 ; 117,61 ; 118,39 ; 124,21 ; 124,89 ; 125,98 ; 127,54 ; 129,04 ; 130,14 ; 135,62 ; 136, 63 ; 148,17 ; 149,76 ; 149,94 ; 150,12 ; 151,66 ; 154,88 ; 180,56.

- SM (m/z) : 328 (18); 327 (100); 299 (22); 297 (9); 269 (10); 253 (24); 242 (11); 241 (33).

### **EXEMPLE 7**

#### **7-amino-9H-quino[4,3,2-de][1,10]phénanthrolin-9-one (CRL 8344)**

Une suspension de dérivé nitré CRL 8289 (0,4 g, 1,22 mmol) et de fer (0,37 g, 6,59 mmol) dans un mélange  $\text{AcOH}/\text{H}_2\text{O}$  10 : 10 est portée à reflux pendant 1 heure. On ajoute de l'EDTA (1,94 g, 6,59 mmol), puis on alcalinise le milieu réactionnel avec de la soude concentrée. On extrait 3 fois au  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Après séchage sur  $\text{MgSO}_4$  les phases organiques sont évaporées pour donner 0,32 g d'amine attendue sous forme d'un solide bleu.

- Rendement = 88 %

- Point de fusion > 260 °C

- RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) : 5,68 (s, 2H), 7,16 (d, 1H,  $J = 7,8$  Hz), 7,66 (dd, 1H,  $J = 7,6$  et 4,8 Hz), 7,69 (dd, 1H,  $J = 7,8$  et 7,8 Hz), 7,91 (d, 1H,  $J = 7,8$  Hz), 8,46 (d, 1H,  $J = 5,2$  Hz), 8,77 (dd, 1H,  $J = 1,6$  et 7,6 Hz), 9,17 (dd, 1H,  $J = 1,6$  et 4,8 Hz), 9,21 (d, 1H,  $J = 5,2$  Hz).

- RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) : 109,42 ; 112,71 ; 117,70 ; 118,43 ; 124,29 ; 125,64 ; 129,12 ; 132,63 ; 132,81 ; 135,53 ; 137,27 ; 141,68 ; 148,68 ; 148,89 ; 149,03 ; 151,96 ; 154,68 ; 180,71.

- SM (m/z) : 298 (34,7); 297 (100); 269 (11); 268 (8).

### **EXEMPLE 8**

#### **5-bromo-9H-quino [4,3,2-de] [1,10] phénantrolin-9-one (CRL 8248)**

A une solution d'ascididémine (0,5 g, 1,77 mmol) dans 20 ml d'acide acétique, on ajoute goutte à goutte une solution de brome (0,2 ml, 3,88 mmol) dans 5 ml d'acide acétique. Le milieu réactionnel est porté à reflux (réfrigérant bouché)

heures. Après refroidissement, on neutralise par une solution saturée de  $\text{NaHCO}_3$  et on extrait 4 fois au  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Les phases organiques sont séchées sur  $\text{MgSO}_4$  puis évaporées. Le brut obtenu est purifié par flash-chromatographie sur colonne de silice ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  96 : 4) pour donner 0,548 g de dérivé bromé  
 5 attendu sous forme d'un solide jaune.

- Rendement = 86 %

- Point de fusion = 208 °C

- RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) : 7,68 (dd, 1H, J = 4,4 et 8 Hz), 8,09 (dd, 1H, J = 8,8 Hz, J = 2 Hz), 8,48 (d, 1H, J = 8,8 Hz), 8,49 (d, 1H, J = 6Hz), 8,79 (dd, 1H, J = 2 et 8  
 10 Hz), 8,82 (d, 1H, J = 2 Hz), 9,18 (dd, 1H, J = 2 Hz, J = 4,4 Hz), 9,30 (d, 1H, J = 6 Hz).

- RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) : 116,76 ; 117,04 ; 118,26 ; 124,76 ; 125,81 ; 125,93 ; 129,05 ; 134,52 ; 135,43 ; 136,72 ; 137,01 ; 144,41 ; 146,24 ; 149,93 ; 150,12 ; 152,27 ; 155,67 ; 181,69.

- SM (m/z) : 363 (99); 362 (83); 361 (100); 360 (27); 255 (9); 254 (51).

 15

## EXEMPLE 9

### 5-amino-9H-quinolo[4,3,2-de][1,10]phénanthrolin-9-one (CRL 8347)

20 A une solution d'ascididémine bromée : CRL 8248 (2,3 g, 6,33 mmol) dans 460 ml de DMF, on ajoute l'azidure de sodium (2,34 g, 36,1 mmol). Le milieu réactionnel est porté à reflux pendant 4 heures. Après refroidissement, on évapore à sec et on reprend le solide obtenu à l'eau. On extrait 4 fois au  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Après séchage sur  $\text{MgSO}_4$  et évaporation du solvant, le brut est purifié par flash  
 25 chromatographie sur colonne de silice ( $\text{HCCl}_3/\text{MeOH}$  90 : 10) pour donner 115 mg de produit attendu sous forme d'une poudre noire.

- Rendement = 6 %

- point de fusion > 260 °C

- RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) : 7,43 (dd, 1H, J = 8,8 et 2,4 Hz), 7,74 (dd, 1H, J = 4,8 et 8  
 30 Hz), 7,81 (d, 1H, J = 2,4 Hz), 8,48 (d, 1H, J = 6Hz), 8,50 (d, 1H, J = 8,8 Hz), 8,90 (dd, 1H, J = 2 et 8 Hz), 9,25 (dd, 1H, J = 2 et 4,8 Hz), 9,29 (d, 1H, J = 6 Hz).



- RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO) : 102,26 ; 117,13 ; 118,54 ; 121,62 ; 123,20 ; 125,34 ; 126,11 ; 129,18 ; 133,80 ; 134,83 ; 135,47 ; 138,42 ; 147,65 ; 148,29 ; 151,63 ; 152,39 ; 154,32 ; 180,35.

- SM (m/z) : 298 (32); 297 (100); 269 (4); 268 (0,5).

5

**EXEMPLE 10**

**10-méthoxy-9H-quino[4,3,2-de][1,10]phénanthrolin-9-one**  
(CRL 8368)

10 Préparation selon la procédure décrite par Y. Kitahara *et al.*, Heterocycles, 1993, 36, 943-946.

**EXEMPLE 11 :**

**10-hydroxy-9H-quino[4,3,2-de][1,10]phénanthrolin-9-one**  
(CRL 8387)

15 Préparation selon la procédure décrite Y. Kitahara *et al.*, Tetrahedron, 1997, 53, 17029-17038.

**EXEMPLE 12 :**

**9H-quino[4,3,2-de][1,10]phénanthrolin-9-imine**  
(CRL 8290)

20 100 mg (0,353 mmol) d'ascididémine sont mis en solution dans une solution contenant 5 ml d'ammoniaque et 2 ml d'EtOH. Le milieu réactionnel est porté à reflux (réfrigérant bouché) pendant 72 heures. Après évaporation du solvant à  
25 l'évaporateur rotatif, le résidu est purifié par flash-chromatographie sur alumine (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 99 : 1), pour donner 87 mg de l'imine CRL 8290.

- Rendement = 87 %

- Point de fusion > 260 °C

30 • RMN  $^1\text{H}$  (CDCl<sub>3</sub>) 7,61 (dd, 1H, J = 5 et 8 Hz) ; 7,86 (dd, 1H J = 8 et 8 Hz) ; 7,97 (dd, 1H, J = 8 et 8 Hz) ; 8,40 (d, 1H, J = 8 Hz) ; 8,43 (d, 1H, J = 6 Hz) ; 8,64

(d, 1H, J = 8 Hz) ; 9,04 (dd, 1H, J = 8 et 2,5 Hz) ; 9,08 (dd, 1H, J = 5 et 2,5 Hz) ; 9,22 (d, 1H, J = 6 Hz), 12,48 (s, 1H).

### **EXEMPLE 13 :**

#### **5 9H-quino[4,3,2-*de*][1,10]phénanthrolin-9-oxime (CRL 8292)**

500 mg (1,77 mmol) d'ascididémine et 500 mg de NH<sub>2</sub>OH, 1/2 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> sont mis en solution dans 1 ml de pyridine et 10 ml d'EtOH. Le milieu réactionnel est porté à reflux pendant 48 heures. Après évaporation du solvant à l'évaporateur rotatif, 20 ml d'eau sont ajoutés, et le milieu est extrait au HCCl<sub>3</sub> (3 fois 20 ml). Les phases organiques sont séchées sur MgSO<sub>4</sub> puis évaporées à l'évaporateur rotatif. Le résidu est purifié par flash-chromatographie sur alumine (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 99 : 1) pour donner 240 mg de l'oxime CRL 8292 sous forme de poudre jaune.

- 15      • Rendement = 46 %
- Point de fusion > 260 °C
- RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) : 7,68 (dd, 1H, J = 4,4 et 8,4 Hz) ; 7,98 (ddd, 1H, J = 7,6 et 7,6 et 1,6 Hz) ; 8,07 (ddd, 1H, J = 7,6 et 7,6 et 1,6 Hz) ; 8,30 (dd, 1H, J = 7,6 et 1,6 Hz) ; 8,56 (d, 1H, J = 6 Hz) ; 8,75 (dd, 1H, J = 7,6 et 1,6 Hz) ; 9,00 (dd, 1H, J = 8,4 et 1,2 Hz) ; 9,12 (dd, 1H, J = 4,4 et 1,2 Hz) ; 9,41 (d, 1H, J = 6 Hz).
- 20      • RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>) : 115,06 ; 116,14 ; 123,16 ; 123,29 ; 125,46 ; 128,33 ; 128,77 ; 129,54 ; 131,86 ; 132,16 ; 138,48 ; 140,94 ; 141,37 ; 145,82 ; 146,75 ; 151,27 ; 151,65 ; 151,80.
- SM (m/z) : 298 (64,5); 268 (100); 266 (21,9).

25

### **EXEMPLE 14 :**

#### **10-(2-acétylanilino)-9H-quino[4,3,2-*de*][1,10]phénanthrolin-9-one (CRL 8333)**

Préparation selon le procédé décrit dans l'exemple 1 à partir du tétracycle intermédiaire B7 (0,4 g, 0,98 mmol) et du diméthylformamide diéthyl acétal (0,6 ml, 3,43 mmol) dans le DMF (4 ml). Chlorure d'ammomium (1,2 g, 22,4 mmol),

30

éthanol (20 ml). Après purification par flash-chromatographie (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 100 : 5), on obtient 144 mg du pentacycle attendu sous forme d'un solide rouge-brun.

- Rendement = 35 %
- Point de fusion > 260 °C

5     • RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) : 2,88 (s, 3H), 3,12 (s, 3H), 5,54 (d, 1H), 7,13 (d, 1H, J = 6 Hz), 7,30 (ddd, 1H, J = 7,6 et 7,6 et 1,2 Hz), 7,45 (ddd, 1H, J = 7,6 et 7,6 et 1,2 Hz), 7,51 (d, 1H, J = 7,6 Hz), 7,65 (s large, 1H), 7,69 (d, 1H, J = 7,6 Hz), 7,88 (ddd, 1H, J = 7,6 et 7,6 et 1,2 Hz), 7,96 (ddd, 1H, J = 7,6 et 7,6 et 1,2 Hz), 8,48 (d, 1H, J = 6 Hz), 8,51 (d, 1H, J = 6 Hz), 8,57 (dd, 1H, J = 7,6 et 1,2 Hz), 8,64 (dd, 1H, J = 7,6 et 1,2 Hz), 9,23 (d, 1H, J = 6 Hz).

10     • RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>) : 37,22 ; 45,05 ; 109,94, 113,94 ; 116,56 ; 117,38 ; 122,92 ; 123,34 ; 125,43 ; 125,90 ; 129,47 ; 130,27 ; 131,61 ; 132,94 ; 135,87 ; 137,17 ; 137,57 ; 145,87 ; 146,93 ; 149,81 ; 150,28 ; 153,30 ; 154,27 ; 154,54 ; 154,61 ; 183,73.

15

### **EXEMPLE 15 :**

#### **Diiodure de 10-hydroxy-9H-quino[4,3,2-de][1,10]phénanthrolin-9-one (CRL 8369)**

20     500 mg (1,597 mmol) de composé de l'exemple 10 (CRL 8368) et 40 ml d'acide acétique dans 100ml d'acide iodhydrique (57 %) sont chauffés à 100 °C pendant 30 min. Après refroidissement, le milieu réactionnel est versé dans 500 ml d'eau additionnée de glace puis neutralisé par NaHCO<sub>3</sub> (solide). Après plusieurs extractions par un mélange de 5 % de MeOH dans HCCl<sub>3</sub> (6 fois 500

25     ml), les phases organiques sont séchées sur MgSO<sub>4</sub> puis concentrées à l'évaporateur rotatif pour donner 0,36 g de sel sous forme de poudre lie-de-vin.

- Rendement = 41 %
- Point de fusion > 260 °C

30     • RMN <sup>1</sup>H (DMSO) 6,24 (d, 1H, J = 7,6 Hz) ; 6,86 (td, 1H, J = 8 et 4 Hz) ; 7,27 (d, 2H, J = 4 Hz) ; 7,57 (d, 1H, J = 5,2 Hz) ; 7,89 (d, 1H, J = 8 Hz) ; 7,93 (dd, 1H, J = 7,6 et 7,6 Hz) ; 8,51 (d, 1H, J = 5,2 Hz) ; 9,54 (s, 1H) ; 12,62 (m large, 1H) ; 14,42 (s, 1H).

- RMN  $^{13}\text{C}$  RMN (DMSO) 107,81 ; 109,87 ; 114,24 ; 115,36 ; 116,31 ; 117,33 ; 120,11 ; 120,97 ; 124,14 ; 127,63 ; 132,18 ; 132,81 ; 134,89 ; 139,24 ; 139,35 ; 141,15 ; 148,72 ; 181,29.

5

### **EXEMPLE 16**

#### **10-chloro-9*H*-quino[4,3,2-*de*][1,10]phénanthroline-9-one (CRL 8373)**

10 50 mg (0,09 mmol) de sel de l'exemple 15 (CRL 8369) en solution dans 4 ml de  $\text{POCl}_3$  sont portés à reflux pendant 2 heures. Après évaporation du  $\text{POCl}_3$  à l'évaporateur rotatif, le milieu réactionnel est neutralisé par une solution saturée de  $\text{NaHCO}_3$ . Après plusieurs extractions par un mélange 5 %  $\text{MeOH}$  dans  $\text{HCCl}_3$  (5 fois 20 ml), les phases organiques sont séchées sur  $\text{MgSO}_4$  puis concentrées  
15 à l'évaporateur rotatif. Le résidu obtenu est purifié par flash-chromatographie sur colonne de silice ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  /  $\text{MeOH}$  95 : 5) pour donner 20 mg de dérivé attendu sous forme de poudre jaune.

- Rendement = 77 %
- Point de fusion > 260 °C

20 • RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) 7,67 (d, 1H,  $J = 5,6$  Hz) ; 7,95 (ddd, 1H,  $J = 8$  et 8 et 0,8 Hz) ; 8,03 (ddd, 1H,  $J = 8$  et 8 et 1,2 Hz) ; 8,57 (d, 1H,  $J = 5,6$  Hz) ; 8,61 (ddd, 1H,  $J = 8$  et 1,2 Hz) ; 8,68 (ddd, 1H,  $J = 8$  et 0,8 Hz) ; 8,97 (d, 1H,  $J = 5,6$  Hz) ; 9,30 (d, 1H,  $J = 5,6$  Hz).

25 • RMN  $^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ ) 117,60 ; 117,84 ; 123,31 ; 123,60 ; 126,69 ; 129,10 ; 131,17 ; 132,38 ; 133,47 ; 138,21 ; 146,24 ; 146,51 ; 147,26 ; 149,40 ; 150,32 ; 154,30 ; 154,94 ; 180,47.

- SM ( $m/z$ ) : 318 (9,6) ; 316 (70,2) ; 290 (29,6) ; 288 (100) ; 255 (23,4) ; 253 (26,8).

30 **EXEMPLE 17**

**5-bromo-10 méthoxy-9*H*-quino[4,3,2-*de*][1,10] phénanthrolin-9-one  
(CRL 8389)**

Préparation selon le procédé décrit dans l'exemple 1 à partir du tricycle intermédiaire Bg (0,74 g, 1,93 mmol) et de diméthylformamide diéthyl acétal (1,3 ml, 7,24 mmol) dans 15 ml de DMF. Chlorure d'ammomium (1,96 g, 36,4 mmol),  
5 éthanol (200 ml). Après purification par flash-chromatographie (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 95: 5), on obtient 210 mg du pentacycle attendu sous forme de poudre orange.

- Rendement = 42 %

- Point de fusion > 260° C

10 • RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) : 4,14 (s, 3H), 7,14 (d, 1H, J = 5,6 Hz), 8,05 (dd, 1H, J = 2 et 8,8 Hz), 8,43 (d, 1H, J = 6 Hz), 8,44 (d, 1H, J = 8,8 Hz), 8,76 (d, 1H, J = 2 Hz), 8,95 (d, 1H, J = 6 Hz), 9,27 (d, 1H, J = 5,6 Hz).

15 • RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>) : 57,12 ; 109,52 ; 117,00 ; 117,76 ; 119,46 ; 121,58 ; 124,81 ; 125,52 ; 134,72 ; 135,49 ; 137,00 ; 144,85 ; 146,51 ; 147,24 ; 147,92 ; 150,43 ; 156,21 ; 167,98 ; 180,57.

• SM (m/z) : 393 (100); 392 (61.7); 391 (99,2); 390 (17,4) ; 362 (9,2) ; 333 (9,8) ; 254 (34,5).

20 Les résultats des essais pharmacologiques, présentés ci-après, mettent en évidence les propriétés cytotoxiques des composés de formule I, ainsi que les doses maximales tolérées. Ces données permettent d'apprécier l'intérêt thérapeutique des composés revendiqués.

25 **1- Détermination de la dose maximale tolérée (DMT)**

L'évaluation de la dose maximale tolérée a été réalisée chez des souris B6D2F1/Jico âgées de 4 à 6 semaines. Les composés ont été administrés par voie intrapéritonéale à des doses croissantes s'échelonnant de 2,5 à 160 mg/kg.  
30 La valeur de la DMT (exprimée en mg/kg) est déterminée à partir de l'observation du taux de survie des animaux sur une période de 14 jours après une

administration unique du produit considéré. L' évolution pondérale des animaux est également suivie pendant cette période. Lorsque la valeur de la DMT est supérieure à 160 mg/kg, la valeur de la DMT est assimilée à 160 mg/kg par défaut.

5

Les résultats de l'estimation de la dose maximale tolérée (DMT) sont rassemblés dans le tableau I suivant :

TABLEAU I

| Composés CRL                    | DMT (mg/kg) |
|---------------------------------|-------------|
| CRL 8274 (Ascididémine)         | 20          |
| CRL 8269(2-bromoleptoclinidone) | 40          |
| CRL 8323 (Exemple 1)            | 20          |
| CRL 8301 (Exemple 2)            | >160        |
| CRL 8241 (Exemple 3)            | >160        |
| CRL 8325 (Exemple 4)            | >160        |
| CRL 8297 (Exemple 5)            | >160        |
| CRL 8289 (Exemple 6)            | 20          |
| CRL 8344 (Exemple 7)            | >160        |
| CRL 8248 (Exemple 8)            | >160        |
| CRL 8347 (Exemple 9)            | >160        |
| CRL 8292 (Exemple 13)           | >160        |
| CRL 8290 (Exemple 12)           | 80          |
| CRL 8333 (Exemple 14)           | >160        |
| CRL 8368 (Exemple 10)           | >160        |
| CRL 8369 (Exemple 15)           | >160        |
| CRL 8373 (Exemple 16)           | >160        |

|                       |      |
|-----------------------|------|
| CRL 8387 (Exemple 11) | >160 |
| CRL 8389 (Exemple 17) | >160 |

La majorité des produits décrits dans la famille de l'ascididémine ne présentent pas de toxicité directe (DMT > 160 mg/kg) et peuvent donc être utilisés *in vivo* à concentrations tissulaires élevées, donc à des posologies fortes.

5

## 2- Activité cytotoxique sur des lignées cellulaires tumorales en culture

L'influence des composés de formule I sur les cellules néoplasiques a été  
 10 évaluée à l'aide du test colorimétrique MTT. Le principe du test MTT est basé sur la réduction mitochondriale par les cellules vivantes métaboliquement actives du produit MTT (3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5 diphényltétrazolium bromide) de couleur jaune en un produit de couleur bleue, le formazan. La quantité de formazan ainsi obtenue est directement proportionnelle à la quantité de cellules  
 15 vivantes présentes dans le (ou les) puit(s) de culture. Cette quantité de formazan est mesurée par spectrophotométrie.

Les lignées cellulaires sont maintenues en culture monocouche à 37°C dans  
 20 des boîtes de culture à bouchon fermé contenant du milieu de base MEM 25 MM HEPES (Minimum Essential Medium). Ce milieu, adapté à la croissance d'une gamme de cellules variées diploïdes ou primaires de mammifères, est ensuite additionné :

- d'une quantité de 5% de SVF (Sérum de Veau Foetal) décomplémenté à  
 25 56°C pendant 1 heure,
- de 0,6 mg/ml de L-glutamine,
- de 200 IU/ml de pénicilline,

- de 200 mg/ml de streptomycine,
- de 0,1 mg/ml de gentamicine.

Les 12 lignées cellulaires cancéreuses humaines utilisées ont été obtenues auprès de l'*American Type Culture Collection* (ATCC, Rockville, MD, USA). Ces

5 12 lignées cellulaires sont :

- U-373MG (code ATCC : HTB-17) et U-87MG (code ATCC : HTB-14) qui sont deux glioblastomes,
- SW1088 (code ATCC : HTB-12) qui est un astrocytome,
- A549 (code ATCC : CCL-185) et A-427 (code ATCC : HTB-53) qui sont  
10 deux cancers du poumon non-à-petites-cellules,
- HCT-15 (code ATCC : CCL-225) et LoVo (code ATCC : CCL-229) qui sont deux cancers colorectaux,
- T-47D (code ATCC : HTB-133) et MCF7 (code ATCC : HTB-22) qui sont deux cancers du sein,
- J82 (code ATCC : HTB-1) et T24 (code ATCC : HTB-4) qui sont deux  
15 cancers de la vessie,
- PC-3 (code ATCC : CRL-1435) qui est un cancer de la prostate.

Au plan expérimental : 100 µl d'une suspension cellulaire contenant 20 000 à  
20 50 000 (selon le type cellulaire utilisé) cellules/ml de milieu de culture sont ensemencés en plaques multi-puits de 96 puits à fond plat et sont mis à incuber à 37°C, sous atmosphère comprenant 5% de CO<sub>2</sub> et 70% d'humidité. Au bout de 24 heures d'incubation, le milieu de culture est remplacé par 100 µl de milieu frais contenant soit les différents composés à tester à des concentrations variant de  
25 10<sup>-5</sup> à 10<sup>-10</sup> M soit le solvant ayant servi à la mise en solution des produits à tester (condition contrôle). Après 72 heures d'incubation dans les conditions précédentes, le milieu de culture est remplacé par 100 µl d'une solution jaunâtre de MTT dissous à raison de 1 mg/ml dans du RPMI 1640. Les microplaques sont remises à incuber pendant 3 heures à 37°C puis centrifugées pendant 10 minutes



à 400 g. La solution jaunâtre de MTT est éliminée et les cristaux de formazan bleu formés au niveau cellulaire sont dissous dans 100 µl de DMSO. Les microplaques sont ensuite mises sous agitation pendant 5 minutes. L'intensité de la coloration bleue résultant donc de la transformation du produit MTT jaune en formazan bleu par les cellules encore vivantes au terme de l'expérience est quantifiée par spectrophotométrie à l'aide d'un appareil de type *DYNATECH IMMUNOASSAY SYSTEM* aux longueurs d'onde de 570 nm et 630 nm correspondant respectivement aux longueurs d'ondes d'absorbance maximale du formazan et au bruit de fond. Un logiciel intégré au spectrophotomètre calcule les valeurs moyennes de densité optique ainsi que les valeurs de déviation standard (Dév. Std.) et d'erreur standard sur la moyenne (ESM).

L'activité inhibitrice de la croissance cellulaire des composés de formule I sur les différentes lignées cellulaires tumorales a été comparée à celle du produit naturel, l'ascididémine (CRL 8274). L'ensemble des composés présentent une activité inhibitrice significative de la prolifération cellulaire des 12 lignées tumorales humaines : U-87MG, U-373MG, SW 1088, T24, J82, HCT-15, LoVo, MCF7, T-47D, A549, A-427 et PC-3 avec une concentration inhibitrice 50 % (CI 50) qui est comprise entre  $10^{-6}$ M et  $10^{-10}$ M, selon les composés et les lignées tumorales testés. A titre d'exemple, les valeurs des concentrations encadrant les CI50 obtenues sur les différentes lignées cellulaires sont données dans le tableau II :

TABLEAU II

| COMPOSES  | LIGNES CELLULAIRES   |                      |                      |                      |                      |                      |                      |                      |                      |                      |                      |                      |                      |
|-----------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
|           | CRL                  | U-87MG               | U-373MG              | SW1088               | T24                  | J82                  | HCT-15               | LoVo                 | MCF7                 | T-47D                | A549                 | A-427                | PC-3                 |
| CRL8274   | $[10^{-7}, 10^{-9}]$ | $[10^{-5}, 10^{-7}]$ | $[10^{-5}, 10^{-7}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-7}, 10^{-9}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-8}, 10^{-9}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-8}, 10^{-9}]$ |
| CRL8289   | $[10^{-8}, 10^{-9}]$ | $[10^{-8}, 10^{-9}]$ | $[10^{-8}, 10^{-9}]$ | $[10^{-8}, 10^{-9}]$ | $[10^{-8}, 10^{-9}]$ | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-8}, 10^{-9}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-8}, 10^{-9}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ |
| CRL8248   | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-5}, 10^{-7}]$ | $[10^{-5}, 10^{-7}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-7}, 10^{-9}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ |
| CRL8241   | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ |
| CRL8297   | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ |
| CRL8301   | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-5}, 10^{-7}]$ | $[10^{-5}, 10^{-7}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ |
| CRL8323   | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ |
| CRL8325   | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ |
| CRL8344   | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ |
| CRL8347   | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-8}, 10^{-9}]$ | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-8}, 10^{-9}]$ | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-7}, 10^{-8}]$ | $[10^{-8}, 10^{-9}]$ | $[10^{-8}, 10^{-9}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ |
| CRL8368   | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-5}, 10^{-7}]$ | $[10^{-5}, 10^{-7}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ |
| CRL8369   | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ |
| CRL8373   | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ |
| CRL8387   | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-5}]$          |
| CRL8389   | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ | $[10^{-6}, 10^{-7}]$ |
| CRL8268*  | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ |
| CRL8322*  | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ |
| CRL8324** | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ | $[10^{-5}, 10^{-6}]$ |

Concentrations inhibitrices (M) encadrant la valeur de la concentration inhibitrice 50 % des composés de formule I, II (\*) ou III (\*\*) sur les lignées cellulaires

On donnera, dans le tableau III, les résultats des CI50 (en nM) moyennes (calculées à partir de l'activité cytotoxique sur les 12 lignées tumorales étudiées) et les ratios DMT/CI50 (ces ratios sont calculés en faisant le rapport des DMT et des CI50 exprimées en nombres sans dimension).

TABLEAU III

| Composés CRL                        | CI 50 (nM) | DMT/CI50 | DMT/CI50* |
|-------------------------------------|------------|----------|-----------|
| CRL 8274 (Ascididémine)             | 100        | 0,20     | 1         |
| CRL 8269<br>(2-bromoleptoclinidone) | 120        | 0,33     | 2         |
| CRL 8289 (Exemple 6)                | 10         | 2,00     | 10        |
| CRL 8248 (Exemple 8)                | 80         | 2,00     | 10        |
| CRL 8241 (Exemple 3)                | 140        | 1,14     | 6         |
| CRL 8297 (Exemple 5)                | 90         | 1,78     | 9         |
| CRL 8325 (Exemple 4)                | 37         | 4,32     | 22        |
| CRL 8344 (Exemple 7)                | 53         | 3,02     | 15        |
| CRL 8347 (Exemple 9)                | 21         | 7,62     | 38        |
| CRL 8323 (Exemple 1)                | 60         | 0,33     | 2         |
| CRL 8301 (Exemple 2)                | 270        | 0,59     | 3         |
| CRL 8389 (Exemple 17)               | 420        | 0,38     | 2         |
| CRL 8368 (Exemple 10)               | 480        | 0,33     | 2         |

\* : le ratio DMT/IC50 des différents composés a été estimé en prenant comme référence un ratio égal à 1 pour l'ascididémine.

10 Les composés décrits présentent, sur les modèles de lignées cellulaires tumorales des CI 50 (nM) supérieures ou équivalentes à celle de l'ascididémine. A l'exception du CRL 8289 (dont la dose maximale tolérée est équivalente à celle de l'ascididémine mais dont la CI50 est dix fois inférieure à celle de

l'ascididémine), les doses maximales tolérées des composés décrits, considérées par défaut équivalente à 160 mg/kg, sont nettement supérieures à celle de l'ascididémine (20 mg/kg). Ces résultats suggèrent que cette nouvelle famille de composés ne présentent pas de toxicité directe. En conséquence, les ratios tolérance/activité cytotoxique des composés exemplifiés dans la présente invention, sont nettement supérieurs à celui de l'ascididémine naturelle. Ces composés peuvent donc être utilisés comme médicament anti-tumoraux, pour leurs propriétés cytotoxiques à des concentrations tissulaires plus élevées que celles induites par l'ascididémine naturelle. Ils sont donc caractérisés par une meilleure maniabilité thérapeutique. Le CRL 8289 dont la CI50 de 10 nM présente également une meilleure maniabilité thérapeutique que l'ascididémine.

Grâce à leurs propriétés cytotoxiques, les composés de formules I tels que décrits ou sous forme de sels ou solvates pharmaceutiques acceptables, peuvent être utilisés comme principes actifs de médicaments.

Les composés de formules I sont généralement administrés en unités de dosage établies soit par  $m^2$  de surface corporelle, soit par kg de poids. Les dites unités de dosage sont de préférence formulées dans des compositions pharmaceutiques dans lesquelles le principe actif est mélangé avec un (ou plusieurs) excipient(s) pharmaceutique(s).

Les composés de formule I peuvent être utilisés selon la pathologie cancéreuse du sujet à traiter à des doses comprises entre 0,05 et 350  $mg/m^2$  de surface corporelle, de préférence à des doses de 0,5 à 50  $mg/m^2/jour$  pour un traitement curatif dans sa phase aiguë en fonction du nombre de cycles de traitement de chaque cure. Pour un traitement d'entretien, on utilisera avantagement les composés de formules I à des doses de 0,05 à 25  $mg/m^2/jour$ , de préférence à des doses de 0,1 à 1,5  $mg/m^2/jour$  selon le nombre de cycles de traitement de la cure. Ils pourront être associés aux médicaments anti-tumoraux utilisés dans les protocoles validés de polychimiothérapie intensive.

Dans les compositions pharmaceutiques de la présente invention pour l'administration par voie orale, intraveineuse, les principes actifs peuvent être administrés sous formes unitaires d'administration, en mélange avec des supports pharmaceutiques classiques adaptés à la thérapeutique humaine. Les formes unitaires d'administration appropriées comprennent les formes par voie orale telles que les comprimés, éventuellement sécables, ou les gélules, les implants et les formes d'administration intraveineuse.

Pour une administration parentérale (perfusion intraveineuse à débit constant), on utilise des suspensions aqueuses stériles, des solutions salines isotoniques stériles ou des solutions stériles et injectables qui contiennent des agents de dispersion et/ou des agents solubilisants pharmacologiquement compatibles, par exemple le propylèneglycol, le polyéthylèneglycol, ou une  $\beta$  cyclodextrine..

Ainsi, pour préparer une solution aqueuse injectable par voie intraveineuse et destinée à une perfusion réalisée sur 1 à 24 h, on peut utiliser un cosolvant : un alcool tel que l'éthanol, un glycol tel que le polyéthylèneglycol ou le propylèneglycol et un tensioactif hydrophile tel que le Tween 80.

Lorsque l'on prépare une composition solide sous forme de comprimés, on peut ajouter au principe actif, micronisé ou non, un agent mouillant tel que le laurylsulfate de sodium et on mélange le tout avec un véhicule pharmaceutique tel que la silice, la gélatine, l'amidon, le lactose, le stéarate de magnésium, le talc, la gomme arabique ou analogues. On peut enrober les comprimés de saccharose, de divers polymères ou d'autres matières appropriées ou encore les traiter de telle sorte qu'ils aient une activité prolongée ou retardée et qu'ils libèrent d'une façon continue une quantité prédéterminée de principe actif.

On obtient une préparation en gélules en mélangeant le principe actif avec un diluant tel qu'un glycol ou un ester de glycérol et en incorporant le mélange obtenu dans des gélules molles ou dures.

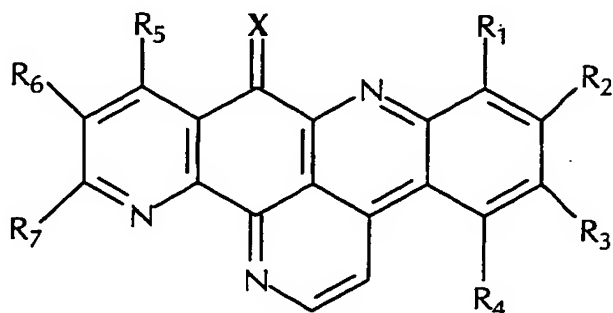
Le principe actif peut être formulé également sous forme de microcapsules ou microsphères, éventuellement avec un ou plusieurs supports ou additifs.

Le principe actif peut être également présenté sous forme de complexe avec une cyclodextrine, par exemple  $\alpha$ -,  $\beta$ - ou  $\gamma$ -cyclodextrine, 2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrine ou méthyl- $\beta$ -cyclodextrine.

- 5 Les composés de formules I seront utilisés dans le traitement de la plupart des tumeurs solides du fait de leurs activités cytotoxiques puissantes, en particulier pour traiter les tumeurs cérébrales, les cancers du poumon, les tumeurs de l'ovaire et du sein, les cancers de l'endomètre, les cancers colo-rectaux, les cancers de la prostate et les tumeurs testiculaires.

## REVENDEICATIONS

- 1 - Composition pharmaceutique comprenant une quantité efficace d'un composé choisi parmi les composés de formule I pour traiter, grâce à leurs propriétés cytotoxiques, les tumeurs cancéreuses et leurs métastases :



**Formule I**

dans laquelle :

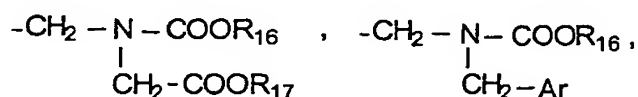
- X est choisi parmi l'oxygène, le groupe =NH, le groupe =N-OH,
- 10 - R<sub>1</sub> est choisi parmi l'hydrogène, les halogènes, le groupe nitro et les groupes -NR<sub>8</sub>R<sub>9</sub> dans lesquels R<sub>8</sub> et R<sub>9</sub> sont choisis indépendamment l'un de l'autre parmi l'hydrogène et les groupes alkyle (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) ;
- R<sub>2</sub> est choisi parmi l'hydrogène, les halogènes,
- R<sub>3</sub> est choisi parmi l'hydrogène, les halogènes, les groupes alkyle (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>),
- 15 les groupes alcoxy (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), un groupe guanidino, les groupes -NR<sub>10</sub>R<sub>11</sub> dans lesquels R<sub>10</sub> et R<sub>11</sub> sont choisis, indépendamment l'un de l'autre, parmi l'hydrogène, les groupes alkyle (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), phénylalkyle (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, et -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>,
- R<sub>4</sub> est choisi parmi l'hydrogène, les halogènes, le groupes nitro, et les
- 20 groupes -NR<sub>12</sub>R<sub>13</sub> dans lesquels R<sub>12</sub> et R<sub>13</sub> sont choisis indépendamment l'un de l'autre parmi l'hydrogène et les groupes alkyle (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) ;
- R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub> et R<sub>7</sub> sont choisis parmi :

l'hydrogène, un atome d'halogène,

les groupes alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, hydroxyle, alcoxy en C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, -CHO, -COOH, -CN, -CO<sub>2</sub>R<sub>14</sub>, -CONHR<sub>14</sub>, -CONR<sub>14</sub>R<sub>15</sub>, les groupes -NHCOR<sub>14</sub> et -NR<sub>14</sub>R<sub>15</sub>, dans lesquels R<sub>14</sub> et R<sub>15</sub> sont choisis indépendamment l'un de l'autre  
5 parmi l'hydrogène, les groupes alkyle (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) et -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>,

les groupes -phényl-CO-CH<sub>3</sub> ou -phényl-CO-CH=CH-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, morpholino, nitro, SO<sub>3</sub>H,

les groupes :



10 R<sub>16</sub> et R<sub>17</sub> étant choisis parmi les groupes alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> et Ar étant un groupe aryle en C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>,

à l'exclusion des composés dans lesquels X = O, et ou bien R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub> = H, ou bien R<sub>1</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub> = H et R<sub>2</sub> = Br,

et leurs sels d'addition de ces composés avec des acides  
15 pharmaceutiquement acceptables.

2 - Composition pharmaceutique selon la revendication 1 comprenant une quantité efficace d'un composé choisi parmi les composés de formule I dans laquelle :

- X représente l'oxygène,
- 20 - R<sub>1</sub> est choisi parmi l'hydrogène et le groupe amino,
- R<sub>2</sub> est choisi parmi l'hydrogène et les halogènes,
- R<sub>3</sub> est choisi parmi l'hydrogène, les halogènes, les groupes alkyle (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), les groupes alcoxy (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), un groupe guanidino, les groupes -NR<sub>10</sub>R<sub>11</sub> dans lesquels R<sub>10</sub> et R<sub>11</sub> sont choisis, indépendamment l'un de l'autre, parmi  
25 l'hydrogène, les groupes méthyle, phénylalkyle (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> ;
- R<sub>4</sub> est choisi parmi l'hydrogène, les halogènes et le groupe nitro et amino,
- R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub> représentent un hydrogène,



à l'exclusion des composés dans lesquels  $R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7 = H$ , ou  $R_1, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7 = H$  et  $R_2 = Br$ ,

et leurs sels d'addition de ces composés avec des acides pharmaceutiquement acceptables.

3 - Composition selon la revendication 2 dans laquelle les composés sont choisis parmi :

la 5-(diméthylamino)-9*H*-quino[4,3,2-*de*][1,10]phénanthrolin-9-one,

la 5-(benzylamino)-9*H*-quino[4,3,2-*de*][1,10]phénanthrolin-9-one,

la 5-bromo-9*H*-quino[4,3,2-*de*][1,10]phénanthrolin-9-one,

10 la 7-amino-9*H*-quino[4,3,2-*de*][1,10]phénanthrolin-9-one,

la 5-amino-9*H*-quino[4,3,2-*de*][1,10]phénanthrolin-9-one,

la 5-méthyl-9*H*-quino[4,3,2-*de*][1,10]phénanthrolin-9-one,

la 10-méthoxy-9*H*-quino[4,3,2-*de*][1,10]phénanthrolin-9-one,

la 5-méthoxy-9*H*-quino[4,3,2-*de*][1,10]phénanthrolin-9-one,

15 la 7-nitro-9*H*-quino[4,3,2-*de*][1,10]phénanthrolin-9-one,

la 5-chloro-9*H*-quino [4,3,2-*de*] [1,10] phénanthrolin-9-one,

la 5-bromo-10 méthoxy-9*H*-quino[4,3,2-*de*][1,10] phénanthrolin-9-one,

et leurs sels d'addition avec des acides pharmaceutiquement acceptables.

4 - Utilisation d'un composé tel que défini à la revendication 1 ou la  
20 revendication 2 pour la fabrication d'un médicament anticancéreux.

5 - Utilisation selon la revendication 4 dans laquelle les composés sont choisis parmi :

la 5-(diméthylamino)-9*H*-quino[4,3,2-*de*][1,10]phénanthrolin-9-one,

la 5-(benzylamino)-9*H*-quino[4,3,2-*de*][1,10]phénanthrolin-9-one,

25 la 5-bromo-9*H*-quino[4,3,2-*de*][1,10]phénanthrolin-9-one,

la 7-amino-9*H*-quino[4,3,2-*de*][1,10]phénanthrolin-9-one,

la 5-amino-9*H*-quino[4,3,2-*de*][1,10]phénanthrolin-9-one,

la 5-méthyl-9*H*-quino[4,3,2-*de*][1,10]phénanthrolin-9-one,

la 10-méthoxy-9*H*-quino[4,3,2-*de*][1,10]phénanthrolin-9-one,

la 5-méthoxy-9*H*-quino[4,3,2-*de*][1,10]phénanthrolin-9-one,

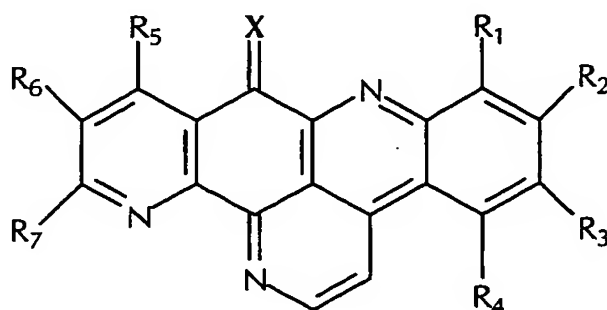
la 7-nitro-9*H*-quino[4,3,2-*de*][1,10]phénanthrolin-9-one,

5 la 5-chloro-9*H*-quino [4,3,2-*de*] [1,10] phénanthrolin-9-one,

la 5-bromo-10 méthoxy-9*H*-quino[4,3,2-*de*][1,10] phénanthrolin-9-one,

et leurs sels d'addition avec des acides pharmaceutiquement acceptables.

## 6 – Composés de formule générale I



Formule I

10

dans laquelle :

- X est choisi parmi l'oxygène, le groupe =NH, le groupe =N-OH,

- R<sub>1</sub> est choisi parmi l'hydrogène, les halogènes, le groupe nitro et les groupes -NR<sub>8</sub>R<sub>9</sub> dans lesquels R<sub>8</sub> et R<sub>9</sub> sont choisis indépendamment l'un de l'autre

15 parmi l'hydrogène et les groupes alkyle (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) ;

- R<sub>2</sub> est choisi parmi l'hydrogène, les halogènes,

- R<sub>3</sub> est choisi parmi l'hydrogène, les halogènes, les groupes alkyle (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), les groupes alcoxy (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), un groupe guanidino, les groupes -NR<sub>10</sub>R<sub>11</sub> dans lesquels R<sub>10</sub> et R<sub>11</sub> sont choisis, indépendamment l'un de l'autre, parmi

20 l'hydrogène, les groupes alkyle (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), phénylalkyle (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, et -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>,

- R<sub>4</sub> est choisi parmi l'hydrogène, les halogènes, le groupes nitro, et les groupes -NR<sub>12</sub>R<sub>13</sub> dans lesquels R<sub>8</sub> et R<sub>9</sub> sont choisis indépendamment l'un de l'autre parmi l'hydrogène et les groupes alkyle (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) ;

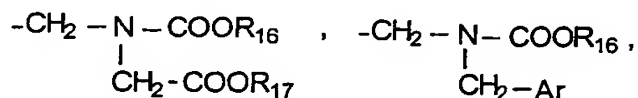
- R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub> et R<sub>7</sub> sont choisis parmi :

5 l'hydrogène, un atome d'halogène,

les groupes alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, hydroxyle, alcoxy en C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, -CHO, -COOH, -CN, -CO<sub>2</sub>R<sub>14</sub>, -CONHR<sub>14</sub>, -CONR<sub>14</sub>R<sub>15</sub>, les groupes -NHCOR<sub>14</sub> et -NR<sub>14</sub>R<sub>15</sub>, dans lesquels R<sub>14</sub> et R<sub>15</sub> sont choisis indépendamment l'un de l'autre parmi l'hydrogène, les groupes alkyle (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) et -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>,

10 les groupes -phényl-CO-CH<sub>3</sub> ou -phényl-CO-CH=CH-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, morpholino, nitro, SO<sub>3</sub>H,

les groupes :



R<sub>16</sub> et R<sub>17</sub> étant choisis parmi les groupes alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> et Ar étant un  
15 groupe aryle en C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>,

à l'exclusion des composés dans lesquels X = O, et ou bien R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub> = H, ou bien R<sub>1</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub> = H et R<sub>2</sub> = Br, ou bien R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub> = H et R<sub>3</sub> = OCH<sub>3</sub>, ou bien R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub> = H et R<sub>5</sub> = OH ou OCH<sub>3</sub>, ou bien R<sub>1</sub> = NO<sub>2</sub> et R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub> = H,

20 et leurs sels d'addition avec des acides pharmaceutiquement acceptables.

7 – Composés selon la revendication 6 qui sont :

la 5-(diméthylamino)-9H-quin[4,3,2-de][1,10]phénanthrolin-9-one,

la 5-(benzylamino)-9H-quin[4,3,2-de][1,10]phénanthrolin-9-one,

la 5-bromo-9H-quin[4,3,2-de][1,10]phénanthrolin-9-one,

25 la 7-amino-9H-quin[4,3,2-de][1,10]phénanthrolin-9-one,

la 5-amino-9H-quin[4,3,2-de][1,10]phénanthrolin-9-one,

la 5-méthyl-9H-quin[4,3,2-de][1,10]phénanthrolin-9-one,

la 5-chloro-9*H*-quino [4,3,2-*de*] [1,10] phénantrolin-9-one,

la 5-bromo-10 méthoxy-9*H*-quino[4,3,2-*de*][1,10] phénanthrolin-9-one,

et leurs sels d'addition avec des acides pharmaceutiquement acceptables.

Le principe actif peut être également présenté sous forme de complexe avec une cyclodextrine, par exemple  $\alpha$ -,  $\beta$ - ou  $\gamma$ -cyclodextrine, 2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrine ou méthyl- $\beta$ -cyclodextrine.

5 Les composés de formules I seront utilisés dans le traitement de la plupart des tumeurs solides du fait de leurs activités cytotoxiques puissantes, en particulier pour traiter les tumeurs cérébrales, les cancers du poumon, les tumeurs de l'ovaire et du sein, les cancers de l'endomètre, les cancers colo-rectaux, les cancers de la prostate et les tumeurs testiculaires.

10

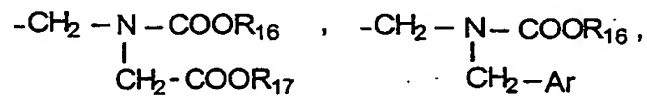
La présente invention a également pour objet les composés de formule I telle que définie précédemment, à l'exclusion des composés dans lesquels  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_4$ ,  $R_5$ ,  $R_6$ ,  $R_7$  = H et  $R_3$  = OCH<sub>3</sub>, ou bien  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $R_6$ ,  $R_7$  = H et  $R_5$  = OH ou OCH<sub>3</sub>, ou bien  $R_1$  = NO<sub>2</sub> et  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $R_5$ ,  $R_6$ ,  $R_7$  = H,

15

- R<sub>4</sub> est choisi parmi l'hydrogène, les halogènes, le groupes nitro, et les groupes -NR<sub>12</sub>R<sub>13</sub> dans lesquels R<sub>12</sub> et R<sub>13</sub> sont choisis indépendamment l'un de l'autre parmi l'hydrogène et les groupes alkyle (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) ;

- R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub> et R<sub>7</sub> sont choisis parmi :

- 5 l'hydrogène, un atome d'halogène,  
les groupes alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, hydroxyle, alcoxy en C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, -CHO, -COOH, -CN, -CO<sub>2</sub>R<sub>14</sub>, -CONHR<sub>14</sub>, -CONR<sub>14</sub>R<sub>15</sub>, les groupes -NHCOR<sub>14</sub> et -NR<sub>14</sub>R<sub>15</sub>, dans lesquels R<sub>14</sub> et R<sub>15</sub> sont choisis indépendamment l'un de l'autre parmi l'hydrogène, les groupes alkyle (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) et -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>,  
10 les groupes -phényl-CO-CH<sub>3</sub> ou -phényl-CO-CH=CH-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, morpholino, nitro, SO<sub>3</sub>H,  
les groupes :



- R<sub>16</sub> et R<sub>17</sub> étant choisis parmi les groupes alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> et Ar étant un  
15 groupe aryle en C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>,  
à l'exclusion des composés dans lesquels X = O, et ou bien R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub> = H, ou bien R<sub>1</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub> = H et R<sub>2</sub> = Br, ou bien R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub> = H et R<sub>3</sub> = OCH<sub>3</sub>, ou bien R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub> = H et R<sub>5</sub> = OH ou OCH<sub>3</sub>, ou bien R<sub>1</sub> = NO<sub>2</sub> et R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub> = H,

- 20 et leurs sels d'addition avec des acides pharmaceutiquement acceptables.

7 – Composés selon la revendication 6 qui sont :

- la 5-(diméthylamino)-9H-quino[4,3,2-de][1,10]phénanthrolin-9-one,  
la 5-(benzylamino)-9H-quino[4,3,2-de][1,10]phénanthrolin-9-one,  
la 5-bromo-9H-quino[4,3,2-de][1,10]phénanthrolin-9-one,  
25 la 7-amino-9H-quino[4,3,2-de][1,10]phénanthrolin-9-one,  
la 5-amino-9H-quino[4,3,2-de][1,10]phénanthrolin-9-one,  
la 5-méthyl-9H-quino[4,3,2-de][1,10]phénanthrolin-9-one,